

ОСНОВЫ
БИОХИМИЧЕСКОЙ
ГЕНЕТИКИ
ЧЕЛОВЕКА

Г. Харрис



THE PRINCIPLES OF HUMAN BIOCHEMICAL GENETICS

HARRY HARRIS

Galton Laboratory,
University College,
London

NORTH-HOLLAND PUBLISHING COMPANY
AMSTERDAM · LONDON

1970

**ОСНОВЫ
БИОХИМИЧЕСКОЙ
ГЕНЕТИКИ
ЧЕЛОВЕКА**

Г. Харрис

Перевод с английского

Г. Г. Гаузе и Ю. В. Дудника

Под редакцией и с предисловием

чл.-корр. АМН СССР И. Б. ЗБАРСКОГО

Издательство «Мир»

Москва 1973

Систематический курс биохимической генетики человека, задуманный в качестве учебного пособия, но вместе с тем вобравший в себя все новейшие данные, что делает его интересным не только для учащихся, но и для специалистов. После изложения основ молекулярной генетики и некоторых генетических концепций автор рассматривает количественную и качественную изменчивость белков и ферментов у человека, так называемые «врожденные нарушения обмена веществ», наследование групп крови, генные мутации, обуславливающие наследственные болезни, варианты гемоглобинов, гаптоглобинов и других белков, в частности ферментов, в различных популяциях человека. В качестве приложения даны перечни известных «врожденных нарушений обмена» и явлений полиморфизма белков и ферментов.

Предназначена для врачей различных специальностей, для генетиков, биохимиков, цитологов, физиологов, экологов, демографов, социологов, для студентов и преподавателей медицинских институтов и биологических факультетов.

Редакция биологической литературы

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	5
Предисловие автора	9
Глава I. Генные мутации и единичные замещения аминокислот	11
I. Введение; гены, ДНК и белки	11
II. Варианты гемоглобина	15
III. Структура вариантов гемоглобина	19
IV. Единичные замещения аминокислот и генетический код	26
V. Эффекты единичных замещений аминокислот.	30
Глава II. Один ген — одна полипептидная цепь	38
I. «Гибридные» белки у гетерозигот	39
II. Полипептидные цепи, определяемые несколькими генными локусами (гемоглобин).	48
III. Лактатдегидрогеназа	53
IV. Фосфоглюкомутаза	59
V. Гены и изоферменты	66
VI. Расположение генных локусов, определяющих множественные молекулярные формы белка, в хромосомах	70
Глава III. Дупликации и делегации, их влияние на структуру белка	79
I. Варианты гаптоглобина	79
II. Дупликация генов и эволюция белка	87
III. Неравный кроссинговер	91
IV. Делеции	97
V. Два аминокислотных замещения в одной полипептидной цепи	99
Глава IV. Генные мутации, изменяющие скорость синтеза белка	101
I. Генетическая регуляция синтеза ферментов и других белков	101
II. Структурные гены и гены-регуляторы	103
III. Скорость синтеза полипептидной цепи и структура генов	105
IV. Наследуемые нарушения скорости белкового синтеза — талассемии	108
Глава V. Количественная и качественная вариабельность ферментов	118
I. Количественные вариации ферментативной активности	118
II. Сывороточная холинэстераза (ацилхолин — ацилгидролаза)	120
III. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФД)	131
IV. Кислая фосфатаза эритроцитов	144

Глава VI
I.
II.
III.
IV.
V.

VI.
VII.
VIII.
IX.
X.

Глава VI
I.
II.
III.
IV.

Глава VI
I.
II.
III.
IV.
V.
VI.

Глава IX
I.
II.
III.
IV.

Приложе
A.
B.
B.

Приложе
Литерат

Глава VI. Врожденные нарушения обмена	151
I. Гаррод и концепция «врожденных нарушений обмена»	151
II. Фенилкетонурия	155
III. Галактоземия	158
IV. Недостаточность изоферментов	160
V. Частичная ферментная недостаточность и ее метаболические последствия; ферменты цикла мочевины	165
VI. Гликогенозы	170
VII. Другие болезни «депонирования»	176
VIII. Гетерозиготы	181
IX. Дефекты систем активного транспорта	186
X. Врожденные нарушения, касающиеся метаболизма лекарствен- ных препаратов	193
Глава VII. Группоспецифические вещества крови	200
I. Группы крови ABO	200
II. Локус <i>Secretor</i> и локус «H»	208
III. Локус <i>Lewis</i> , или <i>Le</i>	212
IV. Пути биосинтеза группоспецифических гликопротеидов	215
Глава VIII. Полиморфизм ферментов и других белков в популяциях человека	221
I. «Обычные» и «редкие» варианты	221
II. Масштабы полиморфизма	235
III. Редкие варианты	242
IV. Мутации, отбор и дрейф генов	243
V. Отбор и явления полиморфизма	247
VI. Заключительные замечания	251
Глава IX. Генные мутации и наследственные болезни	253
I. Молекулярная патология наследственных болезней	254
II. Доминантность и рецессивность	261
III. Гетерогенность наследственных болезней	263
IV. Наследственность и среда	270
Приложение I. Нарушения, связанные с недостаточностью определенных ферментов (врожденные нарушения обмена)	277
A. Нарушения углеводного обмена	277
B. Нарушения обмена аминокислот	282
B. Прочие расстройства	287
Приложение II. Полиморфизм ферментных и других белков	293
Литература	295

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

Предлагаемая читателю книга видного английского ученого, профессора Г. Харриса является прекрасным систематическим курсом биохимической генетики человека. Как отмечает автор в своем предисловии, он ставил перед собой задачу не просто написать вводный курс, но изложить и обосновать современные идеи и концепции в этой быстро развивающейся области. Вместе с тем автор заботился о том, чтобы книга могла служить справочником, в котором можно было бы найти основные сведения по различным вопросам, а также ссылки на оригинальные работы, детально освещающие не вошедшей в книгу фактический материал.

Автору удалось справиться со всеми поставленными задачами. Несомненное достоинство книги — ясное, доступное и логичное изложение предмета на современном уровне. Книга выгодно отличается от руководств по медицинской генетике тем, что основное внимание в ней уделено механизмам наследования и проявления функции измененных генов, а также распространению и взаимодействию различных аллелей в популяциях человека. Детально рассматриваются и обсуждаются связи между первичными изменениями на уровне последовательности нуклеотидов в ДНК, соответствующими изменениями аминокислотной последовательности, образованием и свойствами аномального фермента и конечными результатами этой последовательности событий, выражающимися в изменении физиологических функций и клинических проявлениях наследственного нарушения. Таким образом, в книге рассматриваются в их взаимосвязи проблемы генетики, выражения функции генов, вариабельности и полиморфизма белков (в частности, ферментов) и, наконец, изменения физиологических функций организма.

В книге удачно сопоставлены общебиологические, генетические и медицинские аспекты проблемы. Автор отмечает, что связи между недостаточностью того или иного фермента и ее проявлениями (выражающимися в нарушении или изменении функции определенных органов или систем) часто оказываются для нас совершенно неожиданными. Такое положение вещей обусловлено тем, что многое здесь остается неясным. Неизвестно, например, почему при фенилкетонурии избирательно поражается нервная система или почему недостаточность лизосомной α -1,4-глюкозидазы вызывает особую форму гликогеноза (болезнь Помпе), при которой гликоген избирательно накапливается в миокарде. Ясно, что исследования, касающиеся роли и значения различных ферментов в особенностях обмена в различных органах и тканях, — дело чрезвычайно важное.

Книга логично построена; от рассмотрения генетических аспектов, а также механизмов мутаций (гл. I, II и III) автор переходит к нормальным и аномальным гемоглобинам (гл. IV), количественной и качественной изменчивости ферментов и врожденным нарушениям обмена (гл. V и VI), группоспецифическим веществам крови (гл. VII), разнообразию ферментов и белков в популяциях человека (гл. VIII) и, наконец, к вопросам связи генных мутаций и наследственных заболеваний со средой обитания (гл. IX). В последних двух главах затронуты демографические и социальные аспекты наследственных заболеваний человека. В них рассматривается распространенность различных «обычных» и «редких» аллелей, явления полиморфизма белков и ферментов и другие генетические особенности, связанные с географическими и другими факторами среды и расовыми особенностями популяций. Особенно интересно сопоставление различных заболеваний, показывающее некоторую условность понятия «наследственной» болезни, а также решающее значение (во многих случаях) факторов среды в лечении или предотвращении наследственных заболеваний (гл. IX). Автор, к сожалению, лишь вскользь касается этих важнейших социальных и демографических аспектов. Вместе с тем приведенные им данные ярко демонстрируют огромные преимущества социалистической системы в борьбе с наследственными заболеваниями, а также неправомерность расовых или географических подходов, используемых для обоснования реакционных теорий расового или социального неравенства в популяциях человека. Естественный

вывод из этих глав, хотя сам автор об этом и не упоминает, состоит в том, что только в условиях социалистического строя может быть разрешена важнейшая проблема современной медицины — лечение и профилактика наследственных болезней.

В конце книги имеются приложения, содержащие в форме таблиц основные сведения по всем известным врожденным нарушениям обмена веществ (приложение I) и явлениям полиморфизма ферментов и других белков (приложение II). Эти приложения позволяют быстро найти литературные источники, в которых подробно рассмотрены те или иные аспекты проблемы.

Досадным недостатком книги является отсутствие ссылок на работы советских авторов в области наследственных болезней и биохимической генетики человека. Вместе с тем важные исследования в этой области проводятся в лабораториях В. П. Эфроимсона, С. А. Нейфаха, Ю. Е. Вельтищева, Л. О. Бадаляна, Е. Ф. Давиденковой и других. Основные сведения, касающиеся исследований, проводимых в СССР и в социалистических странах, можно найти в книгах В. П. Эфроимсона «Введение в медицинскую генетику», изд. 2-е, М., 1968; Л. О. Бадаляна, В. А. Таболина и Ю. Е. Вельтищева «Наследственные болезни у детей», М., 1971; Г. А. Алексеева и Ю. Н. Токарева «Гемоглобинопатии», М., 1969; «Молекулярные основы патологии», под ред. В. Н. Ореховича, М., 1966; А. Хорста «Молекулярная патология» (перевод с польского), Варшава, 1967.

Проблема биохимических основ генетики человека относится к наиболее быстро развивающимся и захватывающим областям современной биологии и медицины и представляет большой интерес для широкого круга читателей. За последнее время появилось немало новых исследований, значительно дополняющих материал, охваченный автором. Тем не менее мы отказались от попытки сделать отдельные дополнения, так как они вряд ли позволили бы адекватно отразить прогресс в этой области и могли бы нарушить стройную композицию книги, являющейся логическим и продуманным введением в проблему, знакомство с которой настоятельно необходимо каждому современному исследователю в области биологии и медицины и весьма важно также для практикующих врачей.

И. Б. Збарский

Эта книга возникла в Гальтоновской лаборатории для студентов и научных работников, а также связанных с темой. Главные концепции в области биологии, степень наследственности человека, различий между отдельными группами, способствует выяснению генетики, но также между. Примерно 10 лет тому (Human Bioscience 1959); он охватывал бы исследования тогда подготовленные в этой области. Просто привести пример вопроса, который мы ставим, что для понимания. И дело в том, что в больших масштабах, также в тех случаях, когда мы открываем, что мы видим, следствием этого является целая серия, а также с нашим

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА

Эта книга возникла на основе курса лекций, прочитанных в Гальтоновской лаборатории и предназначавшихся не только для студентов и научных работников, специализирующихся в области генетики человека, но и для студентов-биохимиков, биологов и медиков, а также для всех тех, кто интересуется вопросами, связанными с темой настоящей книги. Мне хотелось изложить главные концепции, лежащие в основе современных представлений в области биохимической генетики человека, обрисовать высокую степень наследственного биохимического разнообразия, являющегося, согласно современным данным, характерной чертой популяций человека, и, наконец, показать, каким образом детальный анализ генетически детерминированных биохимических различий между отдельными представителями человеческого рода способствует выяснению фундаментальных проблем не только генетики, но также медицины и биологии человека вообще.

Примерно 10 лет назад я написал нечто вроде очерка на эту тему (Human Biochemical Genetics, Cambridge University Press, 1959); он охватывал большую часть известных в то время данных, казавшихся тогда сопоставимыми логически. Однако с тех пор исследования в этой области быстро расширились, и в процессе подготовки настоящей книги мне стало совершенно очевидно, что просто привести прежний текст в соответствие с современным состоянием вопроса невозможно. Прогресс в этой области настолько велик, что для последовательного изложения современных данных и концепций необходимо было разработать совершенно иной план. И дело здесь не только в том, что сейчас известно гораздо больше о тех вопросах, которые изложены в прежней книге, но также в том, что появились целые новые области исследования, открывшие перспективы, которые вряд ли можно было даже предвидеть всего лишь несколько лет назад. Одним из важных последствий этого прогресса явилось большее единство предмета в целом. Такие явления, как врожденные нарушения обмена веществ, антигенные различия групп крови, заболевания, связанные с наличием измененных форм гемоглобина, и полиморфизм фер-

ментов и других белков, казавшиеся прежде совершенно не связанными между собой, теперь можно рассматривать в их взаимосвязи, причем с теоретических позиций, которые прежде были немыслимы. Теперь стали вполне правомерными попытки глубже проанализировать всю проблему в целом и представить ее в более систематическом виде. Таким образом, настоящая книга существенно отличается от прежней как по общему плану, так и по подходам и трактовке тех или иных проблем и, разумеется, содержит много нового материала.

При написании подобного рода книги часто бывает очень трудно решить, какие примеры следует избрать для иллюстрации тех или иных проблем и положений и насколько подробно нужно их рассматривать. Не менее трудно решить вопрос о том, что разумнее опустить, с тем чтобы общий объем книги был не слишком велик, и как добиться того, чтобы рассматриваемые проблемы не потонули в огромной массе фактических данных. А поскольку книга такого рода должна служить также и справочником, возникает довольно сложная ситуация. Все эти трудности я попытался преодолеть, приводя ключевые ссылки в тех случаях, когда по тем или иным соображениям данная проблема не рассматривалась в деталях, или же представляя значительную часть материала в виде таблиц, а также в приложениях, в которых опять-таки даются необходимые ссылки. Тем не менее интересующая нас область настолько разрослась, а литература стала настолько обширной (к тому же статьи печатаются во множестве самых разных журналов), что некоторые работы неизбежно пришлось опустить. Автор надеется тем не менее, что настоящая книга содержит достаточно материала для того, чтобы служить не только начальным курсом, в котором изложены основы предмета, но также руководством для дальнейшего изучения специальных проблем.

Г. Харрис

ГЕННЫЕ МУТАЦИИ И ЕДИНИЧНЫЕ
ЗАМЕЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ

I. ВВЕДЕНИЕ; ГЕНЫ, ДНК И БЕЛКИ

Человеческие существа очень разнообразны. Они отличаются друг от друга по умственному и физическому развитию, а также по некоторым физиологическим параметрам. Они различаются и по восприимчивости к заболеваниям. Отчасти эти различия определяются различиями в условиях жизни. Однако они зависят еще и от наследственных различий между людьми. Очевидно, за исключением однояйцовых близнецов, не существует двух индивидуумов, которые были бы абсолютно идентичны по своим наследственным свойствам. Анализ (на молекулярном уровне) природы и проявлений генетически детерминированных различий между людьми и составляет предмет биохимической генетики человека.

Классическая генетика создала концепцию *гена как основной биологической единицы наследственности* и постулировала, что ген должен обладать тремя главными свойствами. Он должен выполнять в клетке и, следовательно, в организме как целом *специфическую функцию*. Он должен обладать способностью к точному *самовоспроизведению*, с тем чтобы обеспечить возможность сохранения функциональной специфичности из поколения в поколение. Наконец, хотя обычно ген чрезвычайно стабилен, он должен обладать способностью подвергаться случайным внезапным изменениям, или *мутациям*, в результате которых появляются новые единицы, или аллели, функционально отличные от исходного гена и воспроизводящиеся в своей новой форме. Было показано, что единицы наследственности объединяются в линейном порядке в *хромосомах*, причем каждый ген занимает в них свое собственное вполне определенное место, или *локус*. Было также показано, каким образом гены передаются от родителей потомкам через яйцеклетки и сперматозоиды, в результате чего обычно имеется пара гомологичных генов, причем один член пары происходит от одного из родителей, а второй — от другого. Благодаря мутационным изменениям в предыдущих поколениях могут возникать множественные аллельные формы данного гена, так что отдельные представители природной популяции могут отличаться по своим признакам в зависимости от специфической природы аллелей, полученных ими от родителей.

Исследование природы генетических различий на молекулярном уровне стало возможным благодаря четырем главным открытиям: 1) установлению химической природы вещества, из которого построен ген и которое определяет его характерные свойства (оказалось, что этим веществом является дезоксирибонуклеиновая кислота, или ДНК); 2) выяснению молекулярной структуры этого вещества наследственности; 3) раскрытию главной биохимической роли ДНК в клетке (эта роль состоит в управлении синтезом ферментов и других белков); 4) расшифровке генетического кода (что предполагает выяснение деталей взаимоотношения структуры нуклеиновых кислот и структуры белков).

Основные принципы молекулярной структуры ДНК были впервые сформулированы в 1953 году Уотсоном и Криком; одновременно с этим они четко указали, что особенности предлагаемой модели структуры ДНК согласуются с тремя главными свойствами генов: специфичностью, репликацией и способностью к мутациям.

Согласно модели Уотсона—Крика, молекула ДНК состоит из двух очень длинных полинуклеотидных цепей, закрученных вокруг общей оси, так что образуется двойная спираль. Остов каждой цепи состоит из регулярно чередующихся фосфатных групп и остатков сахара (дезоксирибозы). С каждым остатком сахара связано азотистое основание, которое обращено внутрь спиральной структуры. Азотистые основания могут быть четырех типов: аденин или гуанин (пуриновые основания), тимин или цитозин (пиримидиновые основания). Обе цепи удерживаются вместе водородными связями между парами противоположащих оснований, отходящих от каждой цепи. Молекулу ДНК можно сравнить с винтовой лестницей, в которой ступеньками служат пары оснований. Спаривание оснований подчиняется некоторым ограничениям; в каждой паре одно основание обязательно должно быть пуриновым, а второе — пиримидиновым, и из всех возможных комбинаций реализуются только две: аденин—тимин и гуанин—цитозин. Данная пара может быть образована любым из двух способов. Например, тимин может находиться в любой цепи, но в противоположной цепи его партнером обязательно должен быть аденин.

Ген можно рассматривать как фрагмент молекулы ДНК, содержащий несколько сотен или тысяч пар оснований. В то время как сахаро-фосфатные остовы двух цепей, образующих двойную спираль, абсолютно одинаковы, пары оснований теоретически могут встречаться в любой последовательности. Поэтому возможны самые разнообразные варианты последовательности оснований, и каждый ген имеет свою собственную уникальную структуру, определяющую его функциональную специфичность. В последовательности пар оснований гена содержится в закодированной форме вполне определенная генетическая информация.

Поскольку от природы одного основания зависит, каким будет второе основание, две полинуклеотидные цепи, образующие молекулу, хотя и различны, но строго комплементарны. Последовательность оснований одной цепи определяет последовательность оснований другой. Репликация может осуществляться путем раскручивания молекулы и расхождения цепей с последующим образованием на каждой из них соответствующей комплементарной цепи за счет клеточного фонда нуклеотидов. Таким образом, каждая цепь служит матрицей для синтеза другой цепи, так что из одной молекулы образуются две точные ее копии, имеющие абсолютно такую же последовательность оснований, что и оригинал.

Генную мутацию можно представить себе как следствие события, проявляющегося в изменении последовательности пар оснований в данном гене. Многие мутации, возможно большинство, состоят, вероятно, в замене всего-навсего одного основания. Однако некоторые мутации представляют собой более серьезные изменения структуры: удвоение или выпадение (делеция) целого участка последовательности и др. Однажды возникнув, ген с измененной структурой будет затем воспроизводиться при последующих клеточных делениях в процессе обычной репликации ДНК.

В организме синтезируется множество различных ферментов и других белков. Каждый из них имеет свои отличительные свойства и функции, а все вместе они определяют и регулируют сложные процессы обмена и развития, которые характеризуют вид в целом, а также отдельный индивидуум. Молекулы белков состоят из одной или нескольких длинных полипептидных цепей, построенных из аминокислотных остатков; эти остатки связаны друг с другом пептидными связями, образуя специфическую линейную последовательность. Обычно в состав белков входит 20 различных аминокислот. Типичная полипептидная цепь состоит из 100... 500 аминокислотных остатков; следовательно, как и в случае ДНК, возможно огромное число различных полипептидов. Трехмерная конформация и, следовательно, характерные свойства и функциональная активность любого белка в конечном счете строго зависят от последовательности аминокислот в его полипептидных цепях.

Крайне важная, основополагающая идея о связи структуры ДНК со структурой белка состоит в том, что последовательность пар оснований в данном гене определяет последовательность аминокислот в соответствующей полипептидной цепи. Таким образом структура, а следовательно и свойства всех ферментов и вообще всех белков, синтезируемых данным организмом, определяются последовательностью пар оснований в его генах.

Генетический код, устанавливающий связь между последовательностями пар оснований и последовательностями аминокислот, был выяснен в основном в опытах на микроорганизмах. Однако

несомненно, что в своей основе он остается тем же самым и у высших организмов, в том числе у человека. Каждой аминокислоте соответствует определенная последовательность трех оснований — триплет. Триплеты оснований располагаются в линейной последовательности и *не перекрываются*. Иными словами, за триплетом, определяющим одну аминокислоту, непосредственно расположен триплет, определяющий следующую аминокислоту, и т. д. Таким образом, обе последовательности — нуклеотидная и аминокислотная — *коллинеарны*. Из четырех азотистых оснований, составляющих ДНК, возможно всего 64 различных триплета; из них 61 триплет определяет каждый одну из двадцати аминокислот, так что одна аминокислота может кодироваться двумя или более различными триплетами (фиг. 5), а 3 так называемых «нонсенс-триплета» (бессмысленных триплета) вообще не кодируют аминокислот, обозначая точку терминации полипептидной цепи.

Перевод последовательности оснований гена в соответствующую последовательность аминокислот полипептидной цепи (трансляция) — процесс сложный; в качестве своего рода посредников в нем участвует несколько разновидностей рибонуклеиновых кислот (РНК). Первая стадия трансляции — разделение двух полинуклеотидных цепей ДНК, так что одна из них может служить матрицей для синтеза комплементарной цепи РНК из имеющегося фонда рибонуклеотидов. При этом правила образования пар оснований остаются теми же, что и при репликации ДНК; однако поскольку в РНК вместо тимина входит урацил, то он и образует пару с аденином. Синтезированная цепь РНК несет ту же генетическую информацию, что и исходная цепь ДНК, но закодированную в комплементарной последовательности оснований РНК. Эта РНК, называемая информационной, или матричной РНК (сокращенно мРНК), затем отделяется от ДНК и переходит из клеточного ядра в цитоплазму, к рибосомам, на которых происходит синтез белка. Прикрепленные к рибосомам цепи мРНК служат матрицами для синтеза полипептидных цепей. Аминокислоты подходят к мРНК, связанные с молекулами другой разновидности РНК, называемой транспортной РНК (тРНК). Молекулы тРНК сравнительно невелики (они состоят примерно из 80 нуклеотидов). Существует целый набор тРНК, специфичных каждая в отношении определенной аминокислоты. Аминокислоты присоединяются к концу своей молекулы тРНК, которая содержит в своей нуклеотидной последовательности специфический триплет оснований, комплементарный триплету мРНК, кодирующему данную аминокислоту. Таким образом, аминокислота, связанная с тРНК, может включаться в синтезируемую полипептидную цепь, определяемую данной мРНК, в нужном месте.

Синтез полипептидной цепи происходит последовательно. Аминокислотные остатки включаются по одному, друг за другом, на-

чина с конца, содержащего свободную аминогруппу (N-конец). Главная особенность синтеза полипептида состоит в том, что включение каждой аминокислоты определяется триплетами оснований в трех типах молекул: ДНК, мРНК и тРНК. Поскольку триплет мРНК комплементарен триплету ДНК, а также триплету тРНК, то хотя основания триплетов и различаются, тем не менее включается одна аминокислота.

Таким образом, наследственную информацию, закодированную в генах, можно рассматривать как программу, определяющую структуру всех ферментов и других белков, синтезирующихся в организме. Однако гены не только определяют структуру белков, но и регулируют их синтез. Природа взаимоотношений молекул в этих регуляторных процессах все еще недостаточно полно изучена, и пока не существует удовлетворительной общей теории регуляции синтеза белка, по крайней мере для многоклеточных организмов (гл. IV). Тем не менее можно сказать, что набор ферментов и других белков у каждого индивидуума должен быть, в самом прямом смысле слова, отражением его генетической конституции. Более того, можно считать, что и наследственные индивидуальные различия, будь то вариация (в пределах нормы) физического и умственного развития и физиологических характеристик или же отклонения в виде тех или иных аномалий, по-видимому, определяются различиями в синтезе ферментов или белков.

II. ВАРИАНТЫ ГЕМОГЛОБИНА

Впервые непосредственное указание на то, что мутация гена приводит к синтезу измененного белка, было получено при исследовании гемоглобина у больных с серповидноклеточной анемией.

Уже давно было известно, что эритроциты у некоторых людей обладают необычной способностью: их форма может обратимо изменяться при изменении парциального давления кислорода [218, 244]. Когда кровь насыщена кислородом, такие эритроциты неотличимы от нормальных — они имеют вид двояковогнутых дисков. Когда же парциальное давление кислорода понижено, они становятся удлинёнными и принимают форму серпа. У большинства людей с так называемой *серповидноклеточностью* не наблюдается никаких патологических симптомов. Однако у некоторых серповидноклеточность связана с характерной тяжелой формой анемии — так называемой серповидноклеточной анемией, которая для детей и подростков, как правило, смертельна. Серповидноклеточность широко распространена в Центральной Африке, где во многих районах частота этого признака достигает 20% и более, причем есть основания предполагать, что в этих районах много детей (1... 2%) погибают от серповидноклеточной анемии. Серповидноклеточность нередко обнаруживается также у негритянского населения в других частях света, в частности в США. Однако

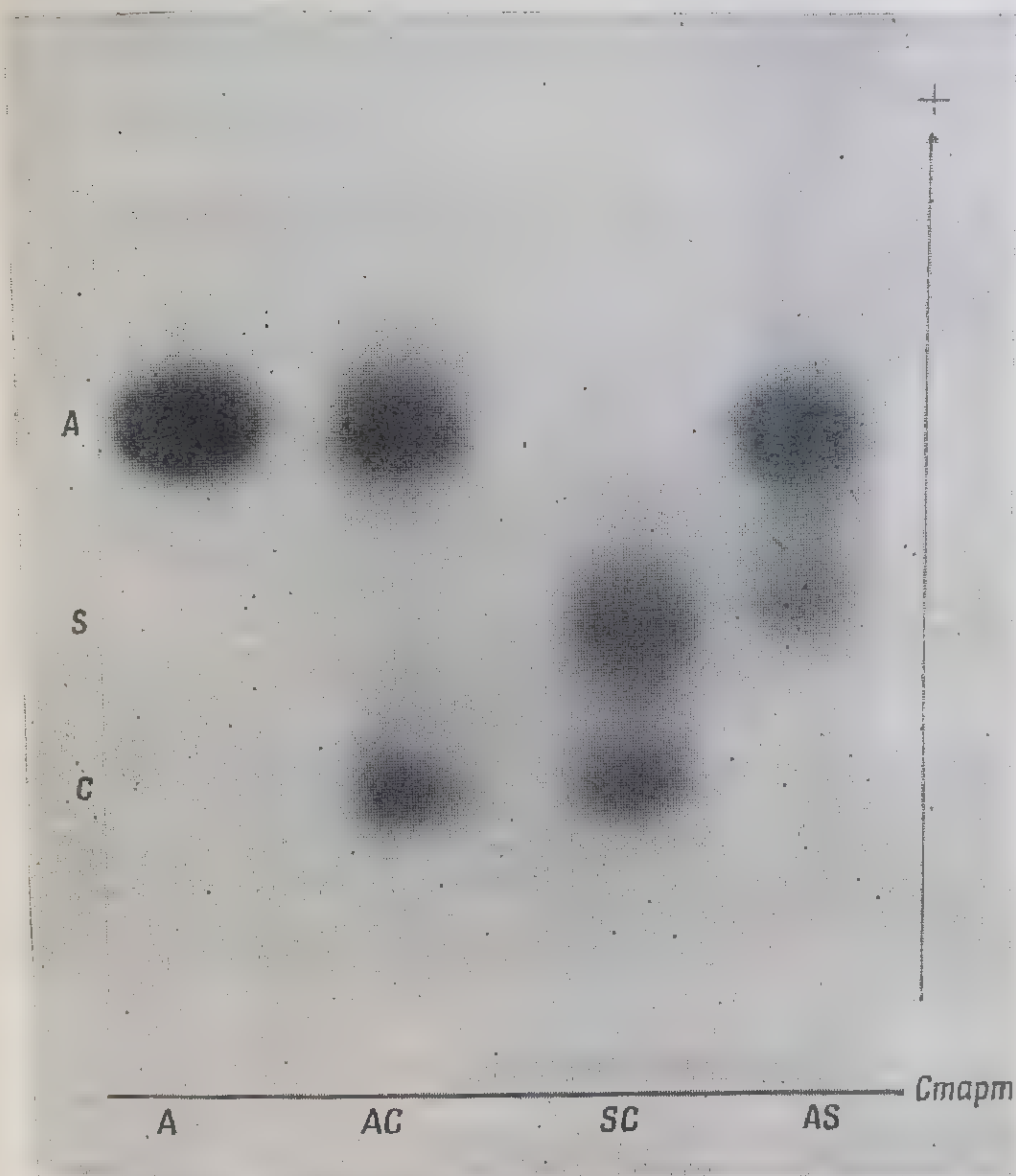
в других популяциях этот признак встречается очень редко или вовсе отсутствует.

Серповидноклеточность является наследственным признаком. В 1949 году Нил [464] и Бит [38] независимо друг от друга показали, что носители признака серповидноклеточности и больные серповидноклеточной анемией — это, по всей вероятности, соответственно гетерозиготы и гомозиготы по определенному аномальному гену, локализованному в одной из аутосом; иначе говоря, индивидуумы, получившие аномальный ген от одного из родителей и его нормальный аллель — от другого, будут носителями признака серповидноклеточности, а у тех, кто получил аномальные гены от обоих родителей, развивается серповидноклеточная анемия. Согласно этой гипотезе, можно ожидать, что при браках между непораженными индивидуумами и носителями признака серповидноклеточности в среднем 50% детей должны быть непораженными, а другие 50% — носителями признака серповидноклеточности. От браков между носителями признака серповидноклеточности должны рождаться непораженные дети, дети — носители признака серповидноклеточности и дети с серповидноклеточной анемией, причем в среднем, согласно закону Менделя, их соотношение должно составлять 1:2:1. Оказалось, что данные, полученные при обследовании семей [465], находятся в хорошем соответствии с этими предсказаниями. Последующие исследования полностью подтвердили гипотезу Нила и Бита.

Примерно в это же время Полинг с сотр. [487] обнаружили, что при серповидноклеточной анемии гемоглобин качественно отличается от гемоглобина нормальных эритроцитов. Они показали, что эти два белка различаются по своим физическим свойствам, а следовательно, вероятно, и по структуре, поскольку их удается разделить с помощью электрофореза. Кроме того, оказалось, что в эритроцитах людей — носителей признака серповидноклеточности содержится как нормальный гемоглобин (HbA), так и аномальный гемоглобин, характерный для серповидноклеточности (HbS). Таким образом, существует, по-видимому, прямое соответствие между генетической конституцией человека и синтезирующимися в его организме гемоглобинами. Индивидуумы, гомозиготные по гену серповидноклеточности, содержат только HbS; индивидуумы, гомозиготные по нормальному аллелю, — только HbA, а у гетерозиготных индивидуумов, унаследовавших ген серповидноклеточности от одного из родителей и его нормальный аллель от другого, имеется гемоглобин обоих типов.

Вскоре был обнаружен другой аномальный гемоглобин, названный HbC [299]. Обследования семей показали, что этот гемоглобин, как и HbS, определяется одним геном. У индивидуумов, гетерозиготных по этому гену, у которых второй аллель нормальный, в эритроцитах содержится как HbA, так и HbC. Они совершенно здоровы, но у них обнаруживается гемоглобин C. У инди-

Фиг. 1. Электрофореграмма (А), носителя гена гемоглобина С и гемоглобина С. Электрофореграммы гомозиготных и гетерозиготных индивидов, пораженных серповидноклеточной анемией, и нормальных индивидов. Электрофореграмма (А) носителя гена гемоглобина С и гемоглобина С. Электрофореграммы гомозиготных и гетерозиготных индивидов, пораженных серповидноклеточной анемией, и нормальных индивидов.



Ф и г. 1. Электрофореграмма гемоглобинов нормального взрослого человека (A), носителя гена гемоглобина С (AC), носителя генов серповидноклеточности и гемоглобина С (SC), носителя серповидноклеточности (AS).

Электрофорез ■ крахмальном геле, рН 8,6.

видуумов, гомозиготных по этому гену, образуется только HbC и не образуется HbA. У них выявляется умеренная или слабо выраженная анемия. Это заболевание протекает клинически значительно легче, чем серповидноклеточная анемия. Существует еще одна форма анемии, которая по тяжести клинического течения занимает промежуточное положение. Речь идет о тех случаях, когда серповидноклеточность сочетается с присутствием аномального гемоглобина С. Обследования семей показали, что такие

больные гетерозиготны: один аномальный ген, определяющий HbS, они наследуют от одного из родителей, а второй аномальный ген, определяющий HbC — от другого. Все эти случаи легко отличить друг от друга, используя электрофорез (фиг. 1).

У носителей HbS — HbC HbA не обнаруживается. Следовательно, гены, определяющие синтез HbS и HbC, аллельны, и в том случае, когда наследуются оба эти гена, нормальный аллель, необходимый для образования HbA, не может присутствовать. Обследования семей, в которых один из родителей является носителем HbS — HbC, а другой родитель гомозиготен по нормальному аллелю, подтвердили это представление. Среди их потомков были носители гена гемоглобина C (AC) и носители гена серповидноклеточности (AS) и не встречались носители генов серповидноклеточности и гемоглобина C (CS) или лица с нормальным гемоглобином (AA). Как мы увидим в дальнейшем, заключение об аллельности генов, определяющих HbS и HbC, подтверждается, кроме того, еще и совершенно другими фактами.

Обнаружение этих аномалий стимулировало поиски других вариантов гемоглобина, и в последующие годы было исследовано много различных форм анемий. Проводилось, кроме того, широкое электрофоретическое исследование гемоглобинов в случайных выборках людей из различных географических районов. В результате этих работ в настоящее время идентифицировано около 100 генетически детерминированных вариантов гемоглобина человека [372]. Большинство из них встречается очень редко и обнаруживается только у гетерозигот вместе с нормальным гемоглобином. Однако некоторые из них, как и HbS, встречаются в некоторых частях света с заметной частотой. Например, HbE встречается довольно часто в различных районах Юго-Восточной Азии, HbC обычен в Западной Африке, а HbD-Пенджаб — в северо-западной Индии.

Как правило, гетерозиготные индивидуумы, у которых имеется один из генов вариантного гемоглобина и его нормальный аллель, вполне здоровы. Однако известны исключения, когда гетерозиготное состояние связано с характерной формой хронической гемолитической болезни или с другими аномалиями (стр. 37). Удалось изучить сравнительно небольшое число случаев гомозиготности по мутантным генам, контролирующим эти варианты гемоглобина. В некоторых подобных случаях наблюдалась хроническая гемолитическая анемия, сходная с серповидноклеточной. Однако известны случаи, когда гомозиготы по гену определенного вариантного гемоглобина совершенно здоровы (например, HbG-Аккра [147]).

Хроническая гемолитическая болезнь встречается также в некоторых случаях гетерозиготности, когда имеются два различных аномальных аллеля, например HbS и HbC. Она часто наблюдается также у гетерозигот, у которых наряду с геном аномального

варианта гемоглобина имеется ген, определяющий особое нарушение синтеза гемоглобина; речь идет о генах талассемии, которые будут рассмотрены в гл. IV. Таким образом, разнообразные болезни крови, которые раньше невозможно было четко дифференцировать, теперь можно определить как специфические нарушения синтеза гемоглобина.

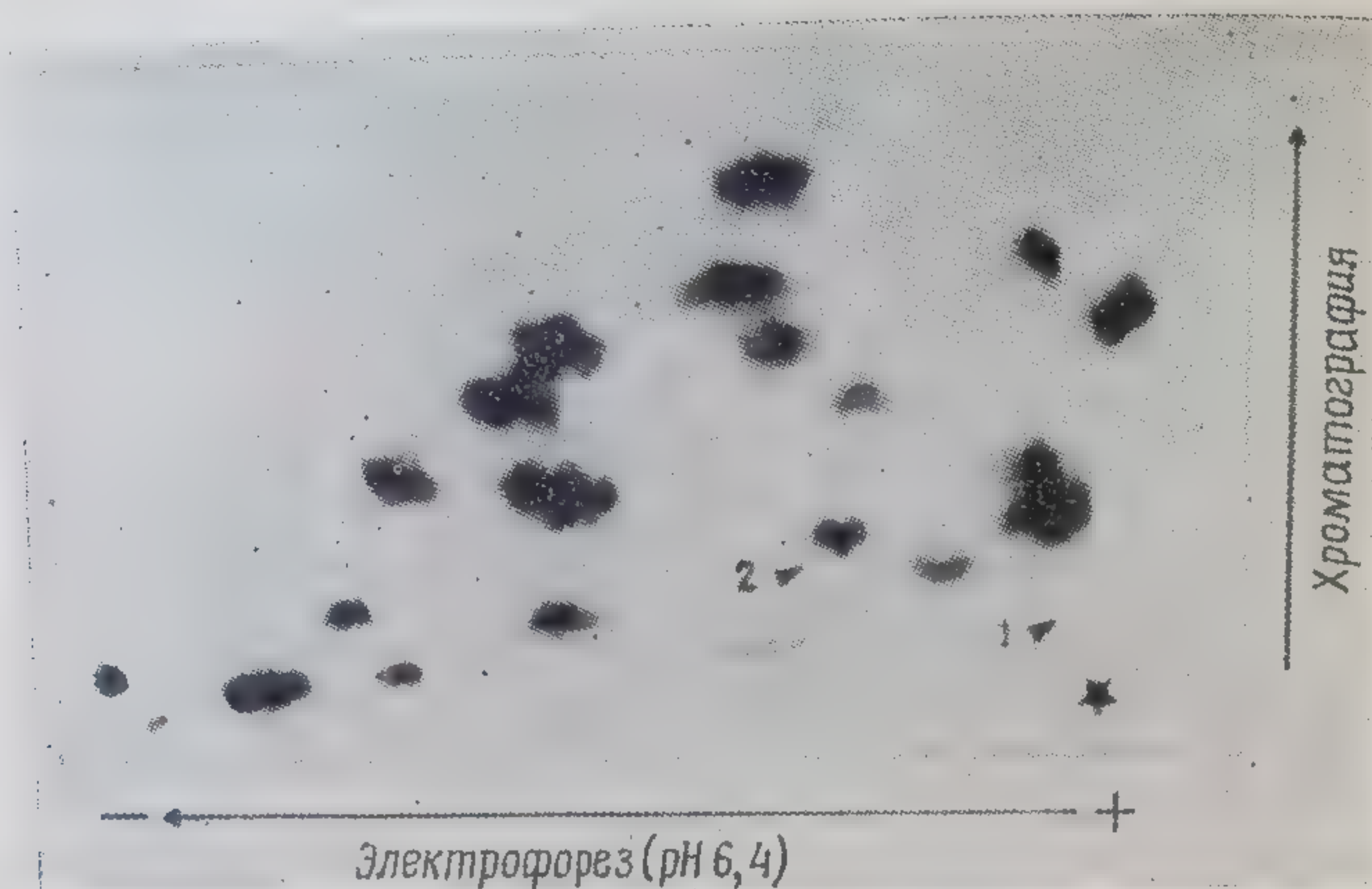
III. СТРУКТУРА ВАРИАНТОВ ГЕМОГЛОБИНА

После того как были обнаружены различные генетически определяемые варианты гемоглобина, возникла проблема выяснения точных отличий их молекулярной структуры от структуры нормального гемоглобина.

Белки состоят из одной или более полипептидных цепей, которые в свою очередь построены из аминокислот, соединенных друг с другом в определенной последовательности с помощью пептидных связей. Когда в белковую молекулу входит более одной полипептидной цепи, они могут быть идентичными или же могут различаться по своим аминокислотным последовательностям. Что касается гемоглобина А, то его молекула состоит из четырех полипептидных цепей двух различных типов (α - и β -цепи), каждый из которых характеризуется определенной аминокислотной последовательностью. Итак, можно сказать, что молекула гемоглобина А имеет структуру $\alpha_2\beta_2$. α -Цепь содержит 141, а β -цепь — 146 аминокислотных остатков; удалось установить и точную последовательность в обеих цепях [83] (фиг. 17).

Каждая полипептидная цепь спирализована и уложена определенным образом, так что целая молекула имеет сложную трехмерную организацию. Принято считать, что пространственная конфигурация, принимаемая полипептидной цепью, и соответственно общая трехмерная организация белковой молекулы определяется аминокислотной последовательностью (так называемой *первичной структурой*) полипептидных цепей. Перутц с сотр. [496], используя метод рентгеноструктурного анализа, детально исследовал способ спирализации, укладки и подгонки друг к другу четырех полипептидных цепей гемоглобина в единой глобулярной белковой молекуле.

К молекулам многих белков присоединены дополнительно небольшие группировки, не содержащие в своем составе аминокислот. Это так называемые *простетические группы*, которые играют важную роль в функционировании белковой молекулы как целого. Простетической группой гемоглобина служит *гем*. Это кольцевая порфириновая структура с атомом железа в центре. Молекула гемоглобина содержит четыре гемогруппы. Каждая из них присоединяется к «своей» полипептидной цепи за счет связи между атомом железа и определенным остатком гистидина полипептидной цепи. На трехмерной модели гемоглобина гемогруппы



Ф и г. 2. Пептидная карта гемоглобина S [373].

Пептиды, полученные ферментативным гидролизом гемоглобина, разделяли на бумаге сначала с помощью электрофореза (в горизонтальном направлении), а затем хроматографически (в вертикальном направлении). Пятна пептидов проявляли нингидрином. Звездочкой обозначено место нанесения смеси пептидов на лист бумаги (старт); 1 — пептид, присутствующий в HbA, но отсутствующий в HbS; 2 — пептид, присутствующий в HbS, но отсутствующий в HbA.

лежат как бы в четырех отдельных карманах, образованных складками полипептидных цепей. Кислород присоединяется к атому железа гемогруппы, что сопровождается небольшим изменением трехмерной конфигурации всей молекулы.

Отличие HbS от HbA по электрофоретической подвижности свидетельствует о том, что они различаются и по своей структуре. Было обнаружено, что различия определяются не гемом, а собственно белковой частью молекулы. Природу этих различий установил Ингрэм [289, 290]; он обнаружил, что в одном и том же месте β -цепи в HbA присутствует остаток глутаминовой кислоты, а в HbS — остаток валина.

Метод, использованный первоначально для обнаружения различий в структуре этих гемоглобинов, получил название метода «отпечатков пальцев»; в настоящее время он широко используется для изучения первичной структуры белков и их генетически детерминированных вариантов. Сначала белок обрабатывают специфическим протеолитическим ферментом, чаще всего трипсином или химотрипсином, так что полипептидные цепи расщепляются с образованием смеси различных мелких пептидов. Эту смесь затем подвергают двумерному разделению на бумаге — сначала с помощью электрофореза, а затем хроматографически. При этом получают так называемые *пептидные карты* — для каждого белка своя характерная карта. Ингрэм обрабатывал гемоглобин трип-

	1	2	3	4	5	6	7	8
HbA	Вал	Гис	Лей	Тре	Про	<u>Глу</u>	Глу	Лиз...
HbS	Вал	Гис	Лей	Тре	Про	<u>Вал</u>	Глу	Лиз...

↑

↑

Ф и г. 3. Последовательности аминокислот в пептиде, присутствующем в триптическом гидролизате HbA, но не в HbS, и в пептиде, присутствующем в триптическом гидролизате HbS, но не в HbA.

Это последовательности первых восьми аминокислот в β -полипептидных цепях HbA и HbS. Они различаются только в положении 6. Стрелкой указано место расщепления пептидной связи трипсином.

сином, который расщепляет пептидные связи, образованные при участии карбоксильной группы лизина или аргинина, и получил сложную пептидную карту (фиг. 2). Пятна на пептидной карте гемоглобина А были идентичны пятнам на пептидной карте HbS, за одним-единственным исключением. Оказалось, что в HbA присутствует один пептид, которого нет в HbS, и наоборот, в HbS имеется пептид, который отсутствует в HbA. Оба пептида были выделены, и были определены их аминокислотные последовательности. Выяснилось, что в каждом из них содержится по 8 аминокислотных остатков, причем последовательность этих остатков в обоих пептидах идентична, за исключением того, что в пептиде из HbA шестое положение от N-конца занимал остаток глутаминовой кислоты, а в пептиде из HbS в этом же положении стоял остаток валина (фиг. 3). Впоследствии было точно доказано, что все остальные пептиды, получаемые при гидролизе этих двух гемоглобинов, абсолютно одинаковы и что пептиды, по которым HbA и HbS отличаются друг от друга, находятся в β -цепи на ее N-конце. Таким образом, HbA и HbS различаются только по одному аминокислотному остатку, присутствующему в β -цепи в шестом положении от ее N-конца. Последовательность остальной части β -цепей в этих гемоглобинах и последовательность их α -цепей идентична. Аминокислотные остатки полипептидной цепи принято нумеровать с N-конца. Тогда если структуру HbA записать в виде формулы $\alpha_2\beta_2$, то для структуры HbS можно записать формулу $\alpha_2\beta_2^{6\text{Глу} \rightarrow \text{Вал}}$.

Гемоглобин S был первым генетически определяемым вариантом белка, для которого удалось точно установить структуру. Полученный результат оказался поразительно простым. Можно предположить, что элементарное различие на уровне гена, такое, например, как различие между геном серповидноклеточности и его нормальным аллелем, есть результат единственного мутационного события, затрагивающего наименьшую единицу наследственной изменчивости. Такое событие, происходящее на генном уровне, должно привести к минимальному изменению первичной структуры специфического белка, а именно к замещению лишь какого-то одного

	Варианты								
	1	5	12	15	23	30	43	47	54
	Вал. . .	Ала. . .	Ала. . .	Гли. . .	Глу. . .	Глу	Фен. . .	Асп. . .	Гли. . .
J _{Торонто}	—	Асп	—	—	—	—	—	—	—
J _{Париж}	—	—	Асп	—	—	—	—	—	—
J _{Оксфорд}	—	—	—	Асп	—	—	—	—	—
Мемфис	—	—	—	—	Гли	—	—	—	—
G _{Аудгали}	—	—	—	—	Вал	—	—	—	—
Чад	—	—	—	—	Лиз	—	—	—	—
G _{Китайский}	—	—	—	—	—	Гли	—	—	—
Турин	—	—	—	—	—	—	Вал**	—	—
L _{Феррара}	—	—	—	—	—	—	—	Глу	—
Хашарон	—	—	—	—	—	—	—	Гис	—
Симоносеки	—	—	—	—	—	—	—	—	Арг
Мехико	—	—	—	—	—	—	—	—	Глу
M _{Бостон}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G _{Филадельфия}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Убе II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Эн-Арбор	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G _{Норфолк}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M _{Ивате}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Бруссе	—	—	—	—	—	—	—	—	—
J _{Кейптаун}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Чезапик	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Манитоба	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Дакар	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Чиापас	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Бибба	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Сингапур	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Ф и г. 4. Замещения аминокислот в α -цепи
Обозначения: * — метгемоглобинемия

α -цепи

58

68

80

85

87

90

92

102

112

114

136

141

Гис. . . Асн. . . Лей. . . Асп. Гис. . . Лиз. . . Арг. . . Сер. . . Гис. Про. . . Лей. . . Арг. . .

Tip*

Лиз

Асп

Arg

Acht

Тир*

Асн

Глу

Лей

Arg

Гли

Arg

Про**

Прод-

26 различных вариантов гемоглобина человека.

** — нестабильные гемоглобины.

в α -цепи
стобинемиз

Ф и г. 5. Замещения аминокислот в β -цепи

Ф и г. 5. Замещения аминокислот

Подробный список литературы по вопросу об аминокислотных замещениях в α - и β -цепях гемоглобина; * — метгемоглобин; \square — серповидноклеточный гемоглобин.

тридцати одного варианта гемоглобина человека. Асп —
различных вариантов гемоглобина и другие примеры приведены в работе [372]. Обозначения:
глобинемия; ** — нестабильные гемоглобины.

	Варианты											
	1	6	7	16	22	26	28	42	43	46	61	63
	Вал ...	Глу	Глу ...	Гли ...	Глу ...	Глу	Лей ...	Фен	Глу	Гли ...	Лиз .	Гис ...
S	—	<u>Вал</u>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C	—	Лиз	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G _{Сан-Хосе}	—	—	Гли	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Сирирей	—	—	Лиз	—	—	—	—	—	—	—	—	—
J _{Балтимор}	—	—	—	Асп	—	—	—	—	—	—	—	—
D _{Бушменский}	—	—	—	Арг	—	—	—	—	—	—	—	—
E _{Саскатун}	—	—	—	—	Лиз	—	—	—	—	—	—	—
G _{Кушатта}	—	—	—	—	Ала	—	—	—	—	—	—	—
E	—	—	—	—	—	Лиз	—	—	—	—	—	—
Генуя	—	—	—	—	—	—	Про**	—	—	—	—	—
Гаммерсмит	—	—	—	—	—	—	—	Сер**	—	—	—	—
G _{Галвестон}	—	—	—	—	—	—	—	—	Ала	—	—	—
K _{Ибадан}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Глу	—	—
Хикари	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Асп	—
M _{Саскатун}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Тир*
Цюрих	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Арг**
M _{Милуоки}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Сидней	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
J _{Иран}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G _{Аккра}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D _{Ибадан}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Агеноги	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M _{Гайд-Парк}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
N _{Балтимор}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Кельн	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Нью-Йорк	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D _{Пенджаб}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
O _{Аравия}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хофу	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K _{Вулвич}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хоуп	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Ф и г. 5. Замещения аминокислот в β -цепи

Подробный список литературы по вопросу об аминокислотных замещениях в α - и β -цепях
 [] — серповидноклеточный гемоглобин; * — метгемо

		Второе основание								
		У	Ц	А	Г					
Первое основание	У	УУУ } УУЦ } УУА } УУГ }	Фен Лей	УЦУ } УЦЦ } УЦА } УЦГ }	Сер	УАУ } УАЦ } УАА } УАГ }	Тир Терм. Терм.	УГУ } УГЦ } УГА } УГГ }	Цис Терм. Три	У Ц А Г
	Ц	ЦУУ } ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }	Лей	ЦЦУ } ЦЦЦ } ЦЦА } ЦЦГ }	Про	ЦАУ } ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ }	Гис Гли	ЦГУ } ЦГЦ } ЦГА } ЦГГ }	Арг	У Ц А Г
	А	АУУ } АУЦ } АУА } АУГ }	Иле Мет	АЦУ } АЦЦ } АЦА } АЦГ }	Тре	ААУ } ААЦ } ААА } ААГ }	Аси Лиз	АГУ } АГЦ } АГА } АГГ }	Сер Арг	У Ц А Г
	Г	ГУУ } ГУЦ } ГУА } ГУГ }	Вал	ГЦУ } ГЦЦ } ГЦА } ГЦГ }	Ала	ГАУ } ГАЦ } ГАА } ГАГ }	Асп Глу	ГГУ } ГГЦ } ГГА } ГГГ }	Гли	У Ц А Г

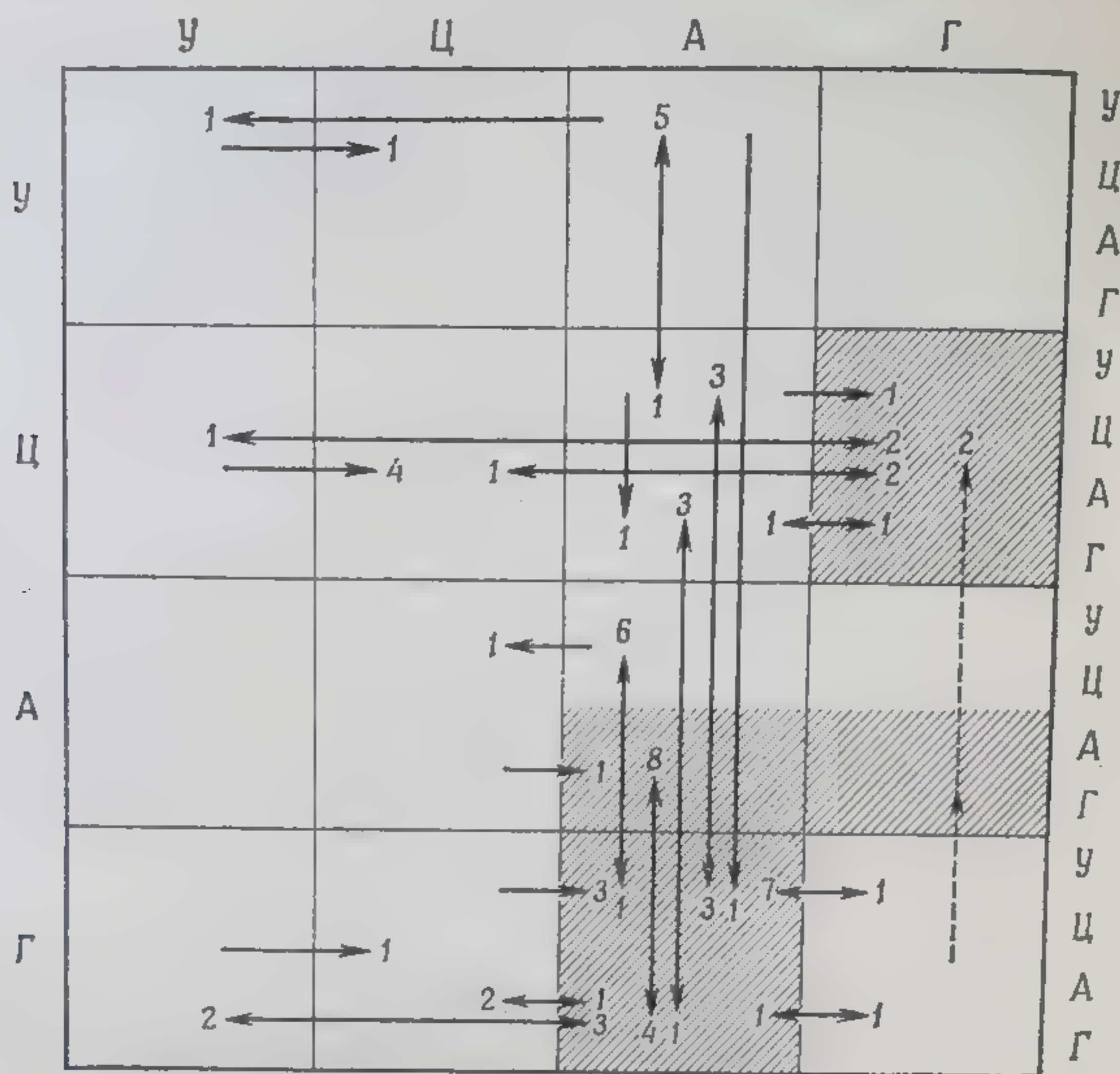
Ф и г. 6. Генетический код.

Подробный список литературы по вопросу о расшифровке кода см. ■ Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 31 (1966) и ■ работах [115, 695, 700].

Основания: У — урацил; Ц — цитозин; А — аденин; Г — гуанин. Аминокислоты: — Ала — аланин; Арг — аргинин; Асп — аспарагин; Асп — аспарагиновая кислота; Цис — цистеин; Гли — глутамин; Глу — глутаминовая кислота; Гли — глицин; Гис — гистидин; Иле — изолейцин; Лей — лейцин; Лиз — лизин; Мет — метионин; Фен — фенилаланин; Про — пролин; Сер — серин; Тре — треонин; Три — триптофан; Тир — тирозин; Вал — валин; Терм — нонсенс-триплет (терминация цепи).

нование того же триплета (ГАА → ГУА или ГАГ → ГУГ). Столь же точные заключения можно сделать для других вариантов гемоглобина, если известно, какая именно аминокислота изменена.

На диаграмме генетического кода удобно выделять различные единичные замещения аминокислот в мутантных формах данного белка стрелками [115], как это показано на фиг. 7 для вариантов гемоглобина. Если замещение аминокислоты есть результат изменения основания в первом положении триплета, то стрелка, отмечающая изменение, направлена вертикально и ее начало и конец в разных квадратах расположены одинаково. Если изменяется второе основание, то стрелка направлена горизонтально. При изменении третьего основания стрелка вертикальна, но начинается и кончается в одном и том же квадрате. Стрелка, расположенная по диагонали, означала бы, что изменены по крайней мере два основания. Этого можно было бы ожидать в значительном числе



Ф и г. 7. Схема, иллюстрирующая единичные замещения аминокислот в α - или β -цепях 79 различных вариантов гемоглобина [115].

Код приведен на фиг. 6. Каждая стрелка здесь соответствует замещению одной аминокислоты, а цифра у стрелки означает число различных вариантов гемоглобина с таким замещением. Заштрихованные участки соответствуют заряженным аминокислотам, т. е. основным аминокислотам — лизину ■ аргинину, или кислым аминокислотам — аспарагиновой ■ глутаминовой кислотам. Представленные здесь варианты гемоглобина приведены в работе [372].

случаев, если бы изменения аминокислот были совершенно произвольны и случайны.

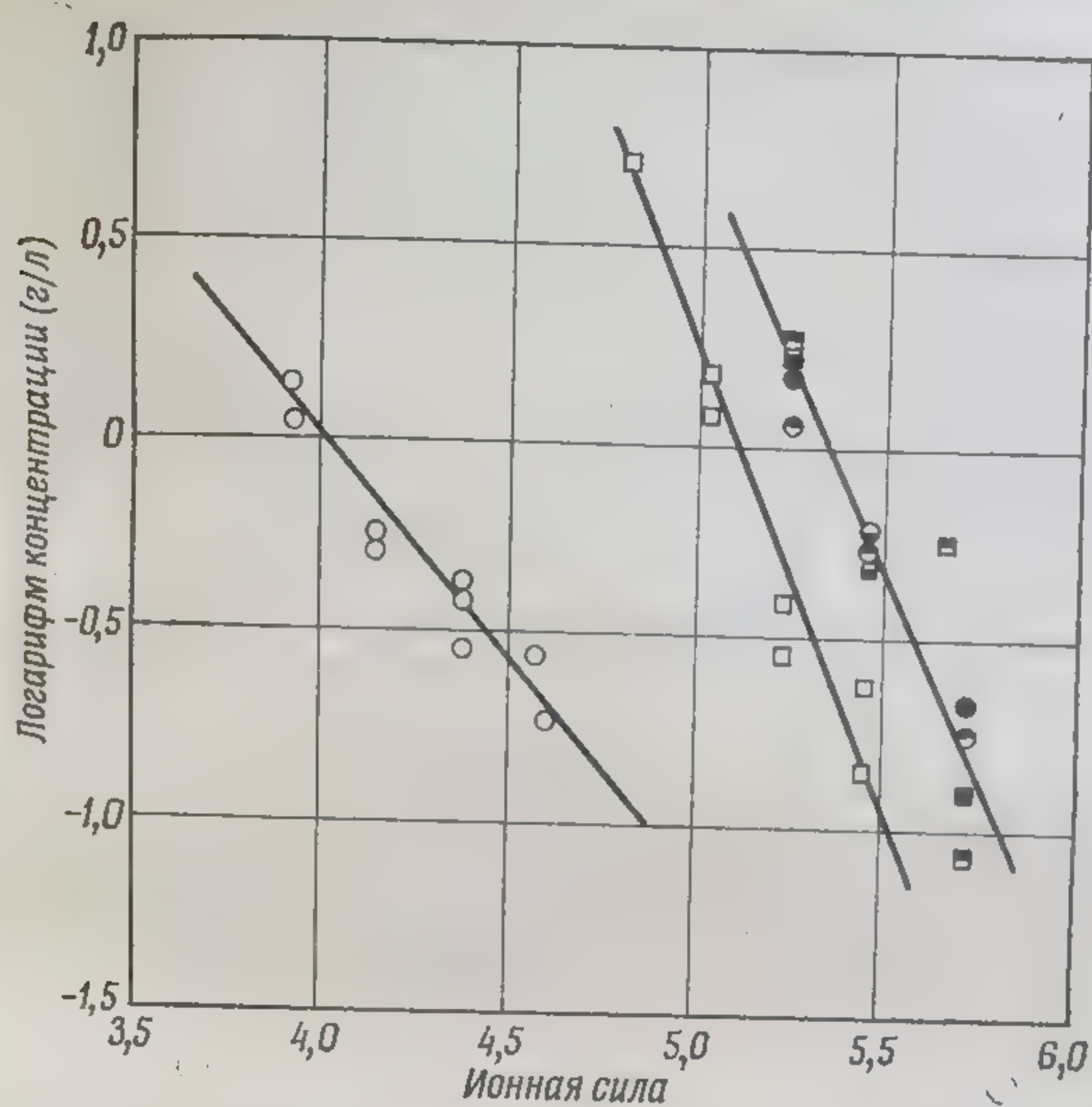
Легко заметить, что большинство стрелок располагается на фиг. 7 в определенных участках. Это объясняется тем, что для обнаружения вариантов гемоглобина использовался один определенный метод. Они были выявлены по электрофоретическим отличиям от нормального гемоглобина А; следовательно, замещение аминокислоты, вероятно, сопровождалось изменением заряда. Участки диаграммы, соответствующие заряженным аминокислотам, заштрихованы; остальные участки соответствуют нейтральным аминокислотам. Большинство стрелок начинается или кончается в заштрихованных участках. Широкое применение электрофореза для обнаружения вариантов гемоглобина объясняется главным образом техническими преимуществами этого метода. Можно предположить, что существуют многочисленные варианты гемоглобина, у которых заряд не изменен и которые по этой причине пока не идентифицированы. Стрелки, соответствующие таким мутациям, должны располагаться в незаполненных участках

диаграммы, приведенной на фиг. 7. Несомненно, эти «скрытые» мутации будут обнаружены с развитием других методов поиска вариантов.

Не все мутации, вызванные изменением одного основания в гене, определяющем данную полипептидную цепь, будут приводить к появлению измененного или вариантного белка. Это объясняется тем, что генетический код является вырожденным и большинство аминокислот кодируется двумя различными нуклеотидными триплетами, а некоторые аминокислоты — четырьмя или шестью. Следовательно, возможны многочисленные замены одного основания, в результате которых появляется новый триплет, кодирующий ту же аминокислоту, что и исходный. В этом случае первичная структура белка останется неизменной. Однако может случиться (об этом речь пойдет ниже), что такая мутация случайно вызовет изменение скорости синтеза белка.

Нужно отметить, что существует другой класс мутаций, совершенно по-иному сказывающихся на структуре белка. При таких мутациях замена основания приводит к тому, что триплет, кодирующий ту или иную аминокислоту, превращается в кодон-терминатор. В результате будут синтезироваться укороченные полипептиды, утратившие последовательность аминокислот, начиная от точки мутации и кончая С-концом нормального полипептида. В большинстве случаев такой укороченный полипептид не будет иметь стабильной трехмерной структуры и, как правило, будет сильно отличаться по своим свойствам от соответствующего нормального белка. Такие мутации были в особых условиях обнаружены у некоторых микроорганизмов. Однако у человека их, видимо, очень трудно идентифицировать; в большинстве случаев они должны проявляться просто в недостатке какого-либо белка или фермента.

Ясно, что в результате различных мутационных актов в гене, кодирующем данную полипептидную цепь, может возникать значительное число единичных изменений оснований. Их влияние на структуру полипептида будет различным в зависимости от характера изменений и от их локализации в гене. Общее представление об относительной частоте различных изменений можно получить, если рассмотреть последовательность из 438 оснований, кодирующих 146 аминокислот β -полипептидной цепи гемоглобина. Около 25% всех возможных изменений одного основания вообще не повлияют на аминокислотную последовательность; около 2... 3% вызовут укорочение полипептида за счет преждевременной терминации цепи и около 73% должны привести к замещению одной из аминокислот полипептида. Из мутаций, определяющих единичное аминокислотное замещение, вероятно, лишь около трети будут сопровождаться изменением заряда полипептидной цепи, благодаря чему вариантный белок можно будет обнаружить с помощью электрофореза.



Ф и г. 8. Растворимость нормального гемоглобина и гемоглобина серповидных клеток как функция ионной силы раствора [495].

Белые кружки — гемоглобин серповидных клеток (восстановленный); черные кружки — гемоглобин серповидных клеток (окисленный); черно-белые кружки — метгемоглобин серповидных клеток; белые квадраты — нормальный гемоглобин (восстановленный); черные квадраты — нормальный гемоглобин (окисленный); черно-белые квадраты — нормальный метгемоглобин.

наружено другое различие— совершенно иного рода. Оказалось [495], что гемоглобин серповидных эритроцитов в восстановленной форме значительно менее растворим, чем нормальный гемоглобин, тогда как в окисленной форме оба гемоглобина не различаются по растворимости (фиг. 8). Это наблюдение позволило объяснить феномен серповидноклеточности HbS-содержащих эритроцитов при низком напряжении кислорода. HbS, присутствующий в эритроцитах в высоких концентрациях, должен при восстановлении выпадать в осадок, вызывая характерную деформацию клеток. Концентрированные растворы гемоглобина серповидных клеток, освобожденные от стромы эритроцитов, по мере уменьшения парциального давления кислорода становятся все более вязкими и в конце концов переходят в гелеобразное состояние, при котором под микроскопом можно наблюдать веретеновидные двоякопреломляющие тельца длиной 1... 15 мкм [240]. Эти тельца по форме поразительно напоминают удлиненные серповидные клетки, которые превращаются интактные эритроциты, содержащие HbS, при недостатке кислорода.

В гемоглобине серповидных клеток остаток глутаминовой кислоты в положении 6 β -полипептидной цепи замещен на остаток валина, т. е. произошла замена полярного остатка на неполярный. Показано, что этот остаток находится на поверхности молекулы. Перутц и Леман [494] предположили, что в восстановленном гемоглобине неполярный остаток валина в положении 6 может притягиваться к комплементарному участку соседней молекулы гемоглобина. Гемоглобин серповидных клеток содержит два остатка валина, замещающего глутаминовую кислоту, по одному в каждой из двух симметрично расположенных β -цепей; точно так же имеется два комплементарных участка. Поэтому в концентрированных растворах HbS отмечается тенденция к образованию длинных линейных агрегатов молекул, чем и объясняется низкая растворимость этого аномального гемоглобина. В восстановленном гемоглобине S с помощью электронного микроскопа были обнаружены длинные агрегаты такого типа [453, 609]. Для объяснения различий в растворимости окисленной и восстановленной форм гемоглобина серповидных клеток было выдвинуто предположение [494], что упомянутые комплементарные участки на поверхности молекулы, к которым притягиваются остатки валина, образуются при конформационных изменениях тетрамерной молекулы, происходящих, как известно, при восстановлении оксигемоглобина. Природа этих комплементарных участков до сих пор не установлена, но они, по-видимому, имеются и в восстановленном HbA и в восстановленном HbS.

Когда внутриклеточная концентрация HbS достаточно высока, как это имеет место у гомозигот по гену серповидноклеточности, эритроциты изменяют свою форму *in vivo*; это происходит преимущественно в венозной крови, для которой характерно низкое парциальное давление кислорода. В результате вязкость крови увеличивается и кровоток по мелким венам и в венозной части капилляров нарушается. Это приводит к дальнейшему восстановлению гемоглобина и появлению еще большего числа серповидных клеток; таким образом создается порочный круг, и в результате вредоносный эффект все более усиливается. Серповидные клетки могут также закупоривать мелкие кровеносные сосуды, образуя тромбы, что приводит к появлению многочисленных очагов деструкции тканей; это весьма характерно для данной болезни и ведет к появлению самых разнообразных симптомов. Кроме того, деформированные эритроциты значительно быстрее разрушаются. Итак, можно по крайней мере в общих чертах связать гемолитическую анемию и другие патологические проявления с изменением растворимости гемоглобина, вызванным специфическим замещением одной аминокислоты.

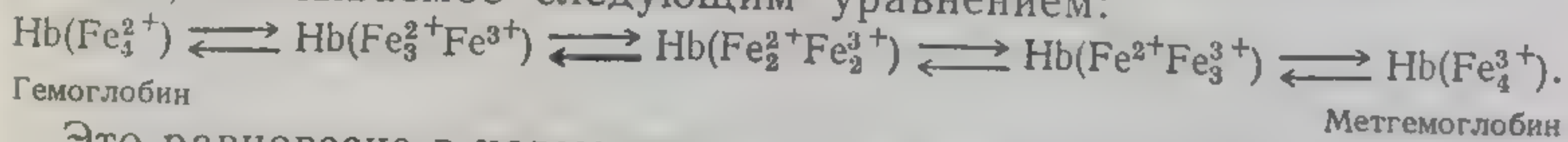
Интересно сравнить серповидноклеточную анемию с другим заболеванием — анемией, обусловленной присутствием гемоглобина S. Серповидноклеточная анемия — тяжелое заболевание, часто

приводящее к смерти в детском и юношеском возрасте. Анемия, обусловленная гемоглобином С, протекает сравнительно доброкачественно, и во многих случаях больные живут нормальной активной жизнью. Оба заболевания являются следствием замещения одного и того же аминокислотного остатка в молекуле нормального гемоглобина — глутаминовой кислоты в положении 6 β -полипептидной цепи, которая в HbS заменена на валин, а в HbC — на лизин. Но если замещение глутаминовой кислоты на валин вызывает серповидноклеточность, которая служит причиной многих патологических нарушений, то при замещении ее на лизин такого изменения не происходит и до сих пор не вполне ясно, каким образом замещение глутаминовой кислоты лизином вызывает даже ту легкую форму гемолитической болезни, которая в таких случаях имеет место.

2. Наследственные метгемоглобинемии

Приведем еще один пример того, сколь важное значение в определении свойств белка имеет положение, по которому происходит замещение аминокислоты. Речь в данном случае пойдет об аномальных гемоглобинах, обнаруживаемых при ряде патологических состояний, известных под названием наследственных метгемоглобинемий.

Метгемоглобин — окисленное производное гемоглобина, в котором железо гемогруппы находится не в обычной закисной, а в окисной форме. Метгемоглобин неспособен обратимо связывать кислород и, следовательно, выполнять свои нормальные функции переносчика кислорода. У нормальных людей лишь очень небольшая часть (менее 0,5%) всего гемоглобина, присутствующего в эритроцитах периферической крови, приходится на метгемоглобин. Хотя метгемоглобин постоянно образуется в результате окисления гемоглобина, в эритроцитах имеется активная восстанавливающая ферментная система, которая переводит железо гемоглобина обратно в закисную форму. В результате устанавливается равновесие, описываемое следующим уравнением:



Это равновесие в норме сильно смещено влево. Однако известно значительное число весьма редких наследственных аномалий, при которых относительное содержание окисного железа в гемоглобине значительно увеличивается. Эти аномалии известны под названием наследственных метгемоглобинемий и характеризуются клинически цианозом, который возникает вследствие того, что значительная часть гемоглобина эритроцитов неспособна связывать кислород.

Некоторые случаи наследственной метгемоглобинемии обусловлены генетическим дефектом фермента метгемоглобинредукта-

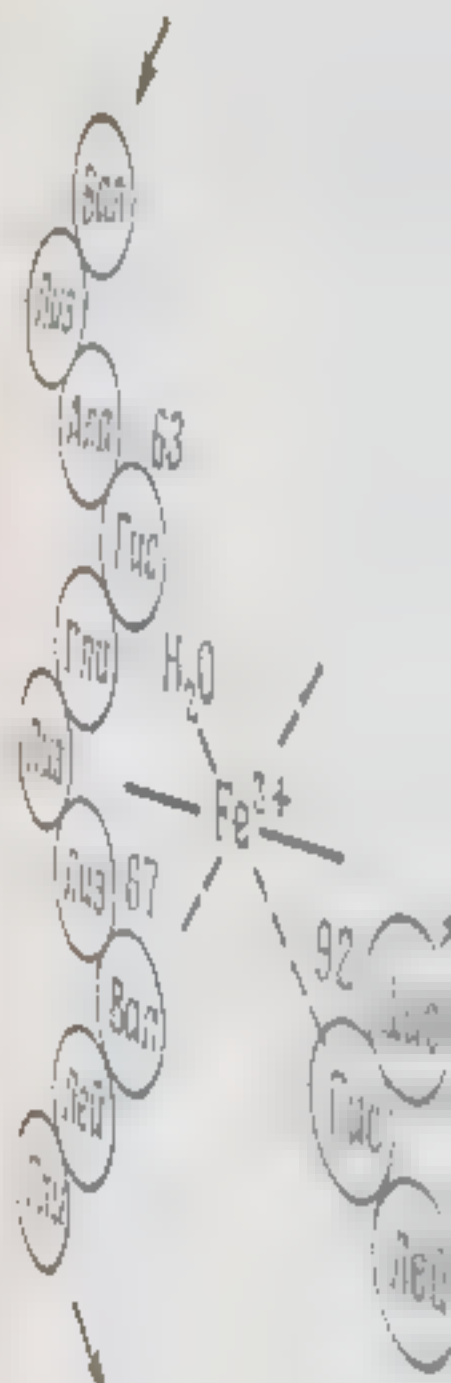
зы (гл. 9, разд. II), который переводит железо гема в закисную форму. В других случаях метгемоглобинемия возникает вследствие образования в организме аномального гемоглобина, у которого окисленная форма отличается необычно высокой стабильностью и потому с гораздо большим трудом восстанавливается нормальной ферментной системой. Известно несколько таких вариантов гемоглобина, причем все они возникают в результате единичных замещений аминокислоты в непосредственной близости от гемогруппы.

Каждая из четырех гемогрупп гемоглобина располагается в отдельном кармане на поверхности молекулы; эти карманы образованы складками соответствующих полипептидных цепей. Каждая гемогруппа соединена со своей полипептидной цепью координационными связями между атомом железа и особым остатком гистидина (фиг. 9), расположенным в положении 87 α -цепи и в положении 92 β -цепи. Атом железа связан также (через молекулу кислорода в окисленном гемоглобине и через молекулу воды в восстановленном гемоглобине) с другим остатком гистидина, расположенным на противоположной стороне складки, образующей карман (в положении 58 α -цепи и в положении 63 β -цепи).

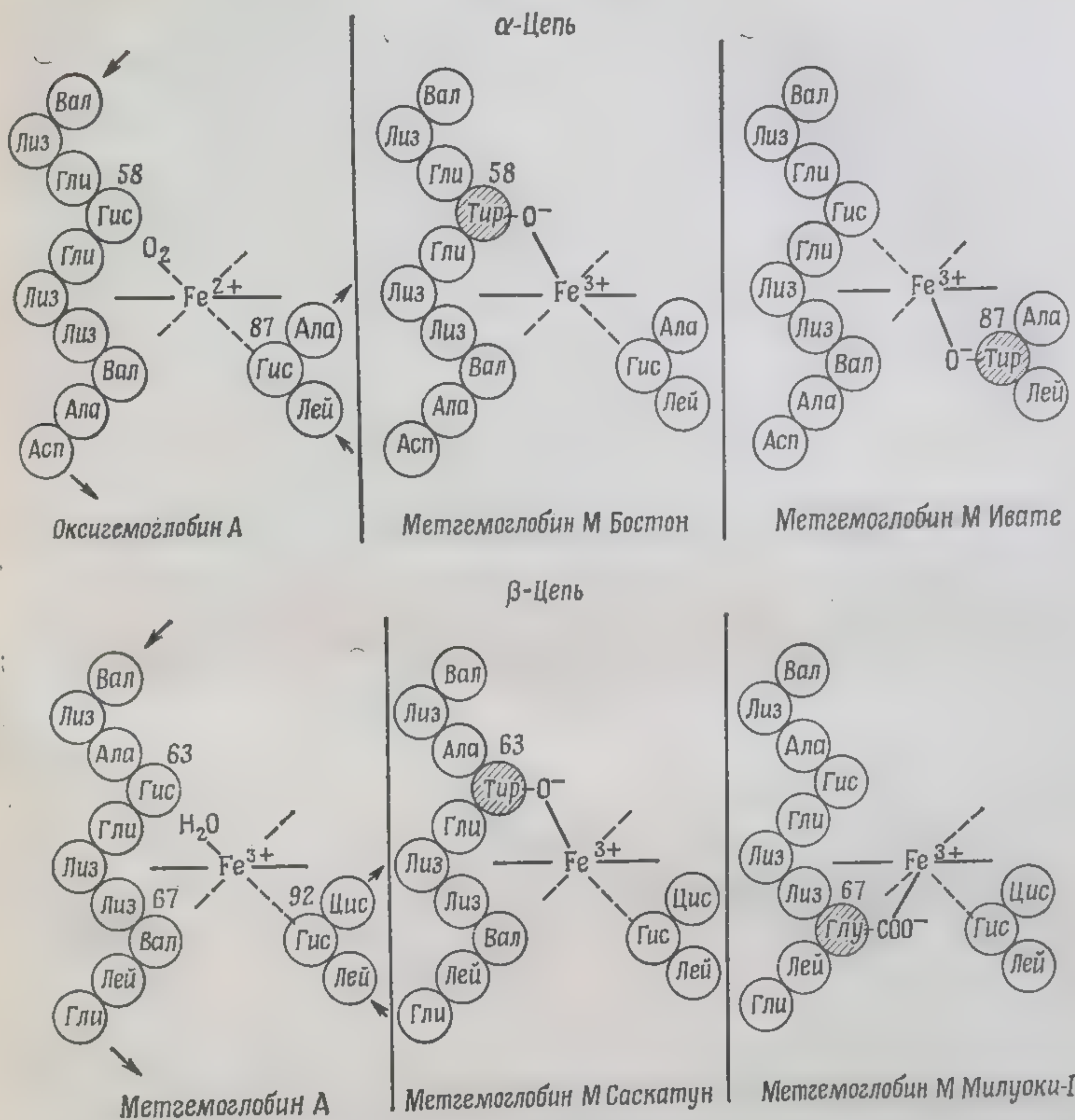
В одном из вариантов гемоглобина, с присутствием которого связана метгемоглобинемия, а именно в НбМ-Бостон, остаток гистидина в положении 58 α -цепи, т. е. очень близко к железу гема α -цепи, замещен на остаток тирозина (фиг. 9) [187]. Когда железо гема в такой молекуле находится в закисной форме, очевидно ничего необычного не происходит. Однако, когда оно окисляется, а это обязательно происходит рано или поздно, фенольная боковая цепь остатка тирозина связывает ион Fe^{3+} . Образуется очень стабильный комплекс, который с трудом восстанавливается нормальной метгемоглобинредуктазной системой, присутствующей в эритроцитах. Таким образом, железо гемогрупп двух α -цепей остается в окисной форме и неспособно связывать и переносить кислород. Однако гемогруппы β -цепей при этом непосредственно не затрагиваются.

В другом известном варианте гемоглобина, Нб-Норфолк [6], остаток глицина в положении 57 α -цепи [26], т. е. в непосредственном соседстве с положением, по которому происходит замещение в случае НбМ-Бостон, замещен на остаток аспарагиновой кислоты. Однако Нб-Норфолк не вызывает метгемоглобинемии. Вероятно, карбоксильная боковая цепь остатка аспарагиновой кислоты, хотя и расположена очень близко к гему, ориентирована так, что оказывается не в состоянии образовать стабильный комплекс с ионом Fe^{3+} . На этом примере видна высокая специфичность замещений, ведущих к нарушению тех или иных функций.

Другие варианты гемоглобина, присутствие которых связано с метгемоглобинемиями, приведены в табл. I и на фиг. 9. В каждом из этих случаев замещение произошло таким образом, что



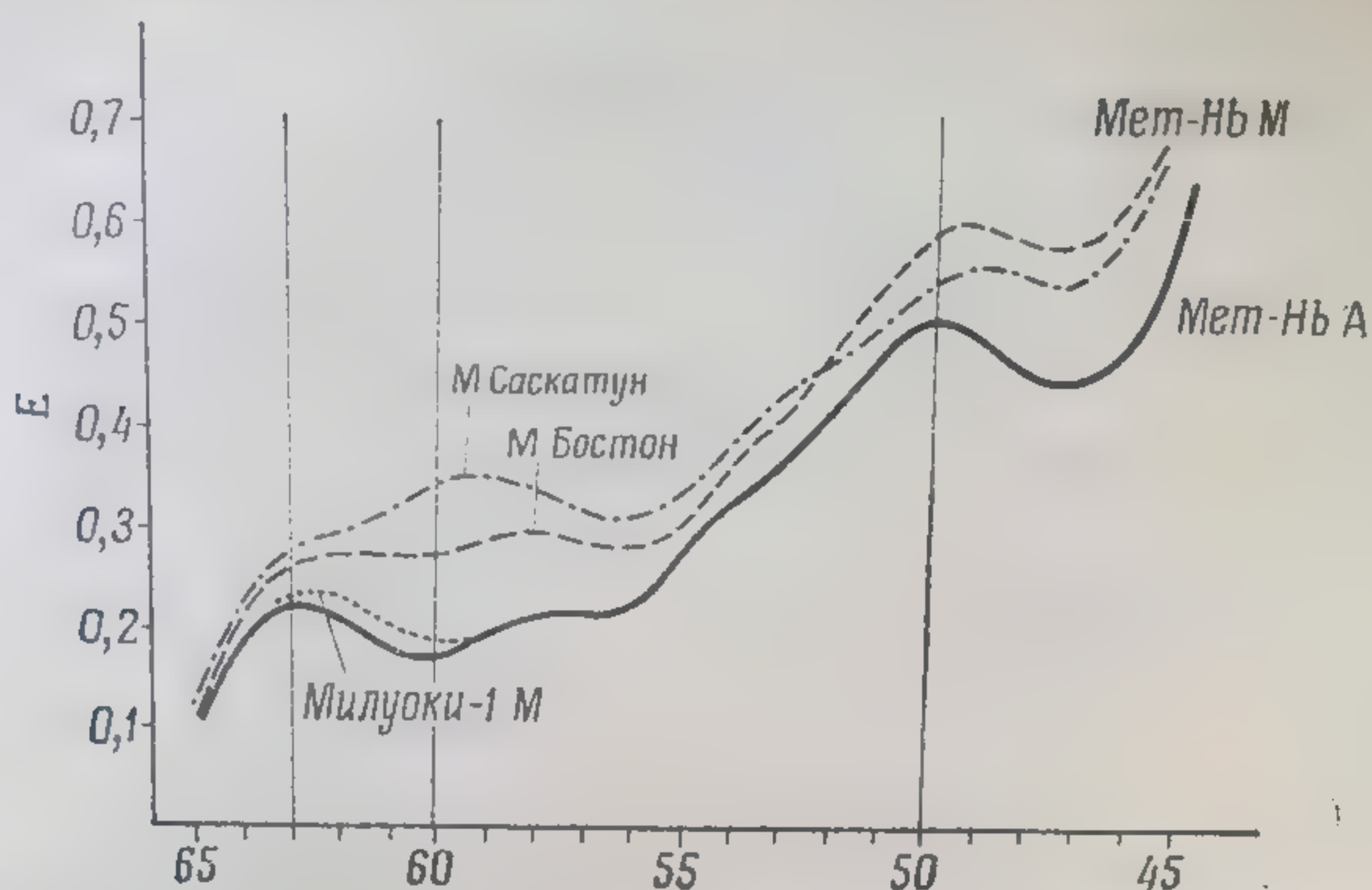
Фиг. 9. Аминокислотные замещения в гемоглобине, приводящие к метгемоглобинемии. В нормальном гемоглобине А атом железа связан с гистидином 87 α -цепи и гистидином 92 β -цепи. В метгемоглобине А (НбМ-Бостон) гистидин 58 α -цепи замещен на тирозин. Тирозин образует стабильный комплекс с ионом Fe^{3+} , что препятствует связыванию кислорода. В метгемоглобине Норфолк (Нб-Норфолк) гистидин 57 α -цепи замещен на аспарагин. Аспарагин не образует стабильного комплекса с ионом Fe^{3+} , поэтому гемоглобин сохраняет способность связывать кислород.



Ф и г. 9. Аминокислотные замещения в различных гемоглобинах М [634].
Во всех случаях замещение происходит в положениях вблизи атома железа гемогруппы, так что может образовываться внутренний комплекс между ионом железа в окисной форме и фенольной боковой цепью замещающего остатка тирозина или отрицательно заряженной боковой цепью глутаминовой кислоты.

может образовываться стабильный, с трудом восстанавливающийся комплекс с железом ближайшей гемогруппы, когда оно находится в окисной форме. В четырех из этих вариантов гемоглобина один из остатков гистидина, связанных с гемогруппой, замещен на тирозин.

Эти виды метгемоглобинемии очень редки и до сих пор гомозигот по соответствующему гену обнаружено не было. В таких случаях в эритроцитах присутствует как нормальный, так и аномальный гемоглобин, а в аномальном гемоглобине только часть



Ф и г. 10. Спектры поглощения метгемоглобина в гемолизатах (исследовались индивидуумы с различными типами гемоглобина М) [634].

По оси абсцисс отложена длина волны в нм ($\times 10$).

гема, связанного или с α -, или с β -цепью, находится в окисной форме, но и этого оказывается вполне достаточно для проявления метгемоглобинемии с явным цианозом.

ТАБЛИЦА 1

Варианты гемоглобина, с которыми связаны метгемоглобинемии

Гемоглобин	Замещение		Источник данных
	α -цепь	β -цепь	
$M_{\text{Бостон}}$	58 Гис \longrightarrow Тир	—	[187]
$M_{\text{Ивате}}$	87 Гис \longrightarrow Тир	—	[432]
$M_{\text{Саскатун}}$	—	63 Гис \longrightarrow Тир	[187]
$M_{\text{Гайд-Парк}}$	—	92 Гис \longrightarrow Тир	[576]
$M_{\text{Милуоки}}$	—	67 Вал \longrightarrow Глу	[187]

Показателем внутримолекулярных изменений в этих аномальных метгемоглобинах служит характерное изменение их спектров поглощения [188]. Отмечается сдвиг максимума поглощения при 632 нм в сторону более коротких длин волн (примерно до 600 нм). Величина этого сдвига варьирует у разных аномальных метгемоглобинов (фиг. 10) и, по-видимому, зависит от характерного нарушения трехмерной структуры, обусловленного тем или иным аминокислотным замещением.

3. Нестабильные гемоглобины

В принципе возможны замещения аминокислот, в результате которых трехмерная структура белка изменяется таким образом, что он становится значительно менее стабильным по сравнению с нормальным белком (это изменение трехмерной структуры может быть обусловлено химическими свойствами и размерами замещающих аминокислот, а также их локализацией в полипептидной цепи). Такие варианты гемоглобина должны были бы легче денатурировать, чем нормальный гемоглобин, а время их полужизни *in vivo* должно быть значительно короче. Такие гемоглобины и в самом деле были обнаружены. Они приведены в табл. 2.

ТАБЛИЦА 2

Некоторые «нестабильные» гемоглобины

Гемоглобин	Замещение		Источник данных
	α -цепь	β -цепь	
Турин	43 Фен \longrightarrow Вал	—	[41]
Бибба	136 Лей \longrightarrow Про	—	[342]
Генуя	—	28 Лей \longrightarrow Про	[544]
Гаммерсмит	—	42 Фен \longrightarrow Сер	[118]
Цюрих	—	63 Гис \longrightarrow Арг	[452]
Сидней	—	67 Вал \longrightarrow Ала	[95]
Санта-Ана	—	88 Лей \longrightarrow Про	[477]
Борас	—	88 Лей \longrightarrow Арг	[257]
Кельн	—	98 Вал \longrightarrow Мет	[95]

У лиц, гетерозиготных по гену, определяющему один из таких «нестабильных» гемоглобинов, отмечается выраженная хроническая гемолитическая анемия, которая не всегда наблюдается у гетерозигот по генам, определяющим большинство других известных вариантов гемоглобина. У гетерозигот по генам нестабильного гемоглобина синтезируется как нормальный HbA, так и аномальный, нестабильный гемоглобин, однако аномальный гемоглобин довольно быстро денатурирует и становится функционально неактивным. Для данной анемии характерно появление телец-включений (тельца Гейнца) в эритроцитах, которые чаще встречаются в случаях спленэктомии. Тельца-включения, по-видимому, состоят из денатурированного гемоглобина; эритроциты с такими тельцами разрушаются, как правило, преждевременно.

В вариантах гемоглобина, перечисленных в табл. 2, аминокислотные замещения имеют место главным образом во внутренних участках трехмерной молекулы, в тех ее положениях, которые

ОДИН ГЕН — ОДНА ПОЛИПЕПТИДНАЯ ЦЕПЬ

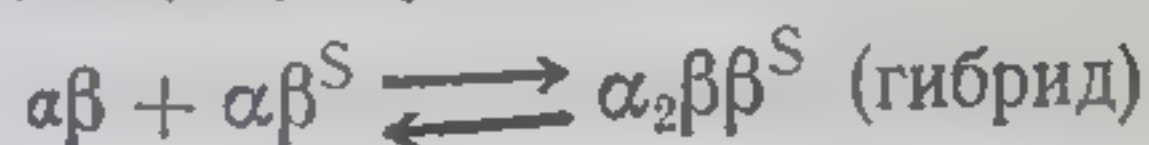
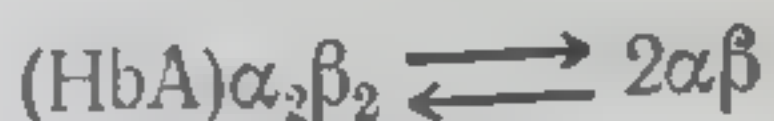
I. «ГИБРИДНЫЕ» БЕЛКИ У ГЕТЕРОЗИГОТ

1. Гемоглобин

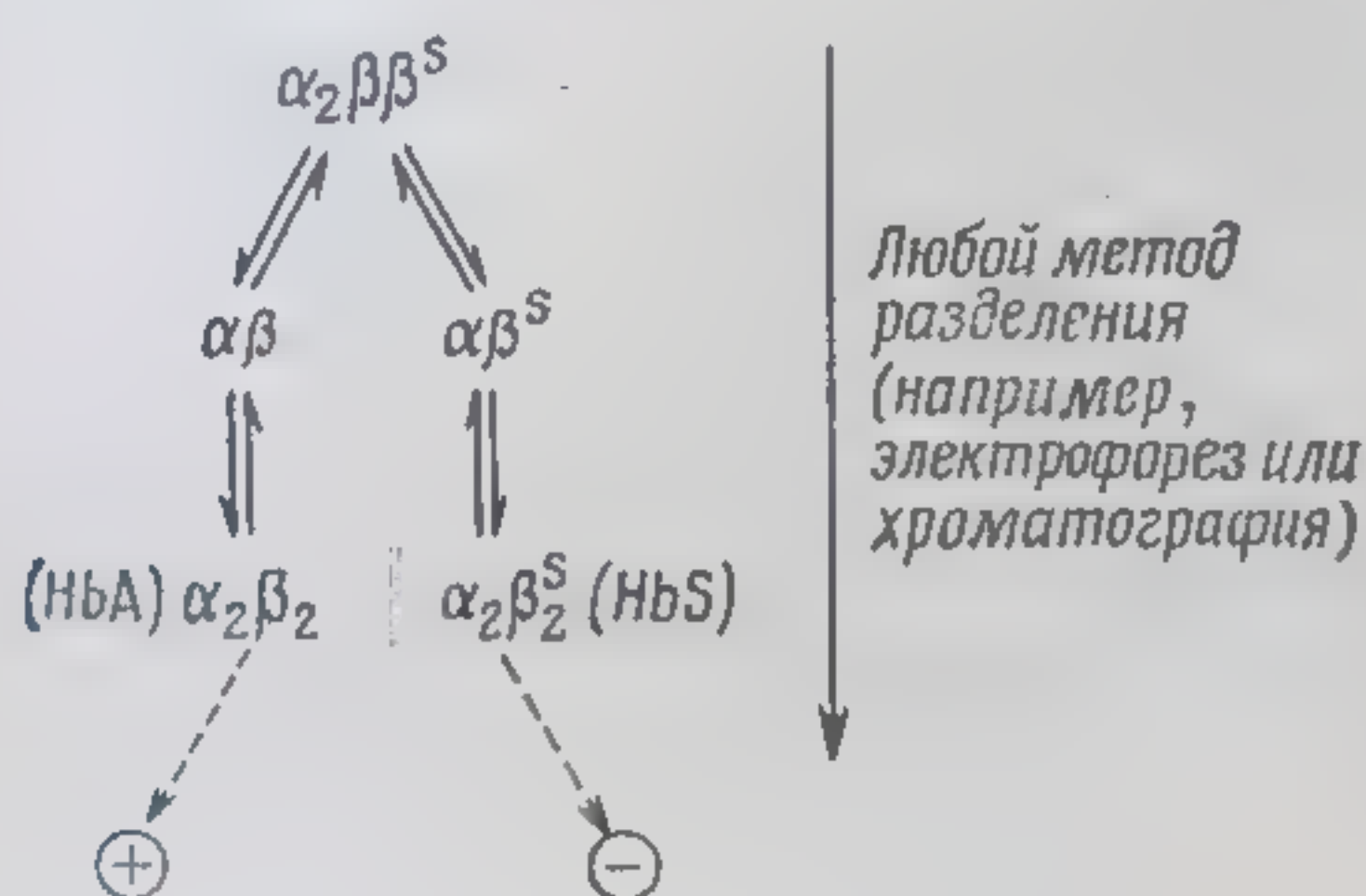
При электрофоретическом исследовании гемолизатов носителей гена серповидноклеточности обнаруживаются два гемоглобина: HbA($\alpha_2\beta_2$) и HbS($\alpha_2\beta_2$)^{6Глу→Вал} (удобнее записать его формулу в виде $\alpha_2\beta_2^S$). Возможен еще один тип гемоглобина — $\alpha_2\beta\beta^S$, однако он пока не обнаружен, хотя, как можно полагать, он образуется у индивидуумов, у которых синтезируются одновременно β - и β^S -полипептидные цепи. Такая же точно любопытная ситуация, которая в течение долгого времени казалась необъяснимой, наблюдается для гетерозигот по аллелям других вариантных гемоглобинов. Например, у носителей гена, определяющего гемоглобин С, обнаруживается HbA($\alpha_2\beta_2$) и HbC($\alpha_2\beta_2^C$), но не $\alpha_2\beta\beta^C$, а у носителей генов серповидноклеточности и гемоглобина С обнаруживается HbS($\alpha_2\beta_2^S$) и HbC($\alpha_2\beta_2^C$), но не $\alpha_2\beta^S\beta^C$.

Однако показано [40, 215], что на самом деле гибридные молекулы типа $\alpha_2\beta\beta^S$ и типа $\alpha_2\beta^S\beta^C$ почти всегда присутствуют в заметных количествах в эритроцитах у гетерозигот. Однако обычно их не удается обнаружить из-за того, что для идентификации индивидуальных компонентов в смесях гемоглобинов приходится их предварительно разделять с помощью таких методов, как электрофорез или хроматография на колонках, а молекулы гемоглобина легко диссоциируют на димеры.

По-видимому, в растворе тетрамер гемоглобина $\alpha_2\beta_2$ частично диссоциирует с образованием димеров $\alpha\beta$, причем очень быстро устанавливается равновесие диссоциация — ассоциация ($\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta$). Аналогично для HbS имеем: $\alpha_2\beta_2^S \rightleftharpoons 2\alpha\beta^S$. В растворе, содержащем как $\alpha_2\beta_2$, так и $\alpha_2\beta_2^S$, конечно, присутствуют димеры $\alpha\beta$ и $\alpha\beta^S$, а также тетрамер $\alpha_2\beta\beta^S$. Два димера и три тетрамера находятся в равновесии (фиг. 11). При электрофорезе или хроматографии такой смеси это равновесие немедленно нарушается вследствие избирательного удаления $\alpha_2\beta_2$ и $\alpha_2\beta_2^S$ на двух противоположных полюсах. По мере того как из смеси выделяется наиболее быстро движущийся тетрамер, скажем $\alpha_2\beta_2$, происходит эффективное удаление димеров $\alpha\beta$, что в свою очередь способствует дальнейшей диссоциации $\alpha_2\beta\beta^S$.



Ф и г. 11. Равновесия диссоциации и ассоциации [тетрамеров и димеров гемоглобина в эритроцитах индивидуума, гетерозиготного по гену серповидноклеточности.



Ф и г. 12. Схема, показывающая, как разделение гемоглобинов в гемолизате индивидуума, гетерозиготного по гену серповидноклеточности, приводит к исчезновению гибридной формы $\alpha_2\beta\beta^S$ [40].

Таким образом, в ходе процесса разделения количество $\alpha_2\beta\beta^S$ все сильнее уменьшается, и к тому моменту, когда достигается полное разделение тетрамеров $\alpha_2\beta_2$ и $\alpha_2\beta_2^S$, молекул $\alpha_2\beta\beta^S$ вовсе не остается (фиг. 12). Естественно, что при анализе гемолизатов носителей гена серповидноклеточности с помощью стандартных методов обнаруживаются только HbA и HbS. Так же точно обстоит дело с гетерозиготами по другим аллелям гемоглобина.

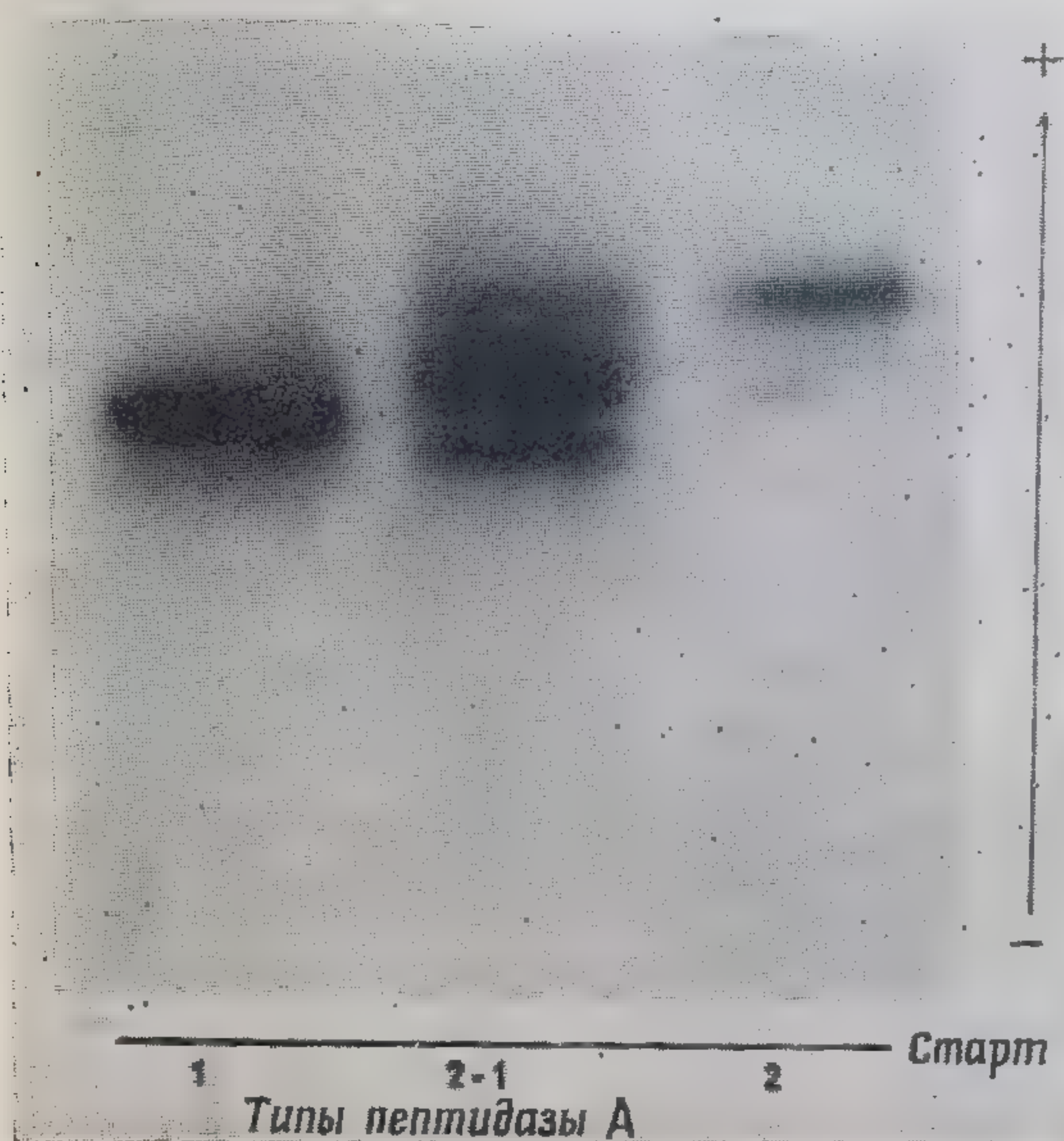
Образование у гетерозигот «гибридных белков», т. е. белковых молекул, состоящих из различающихся по структуре полипептидных цепей, кодируемых двумя аллелями одного гена, по-видимому, явление обычное. В настоящее время обнаружено значительное число «гибридных» форм различных белков и ферментов. Явление это особенно интересно потому, что по самой своей природе такая «гибридная» молекула не может присутствовать у индивидуумов, гомозиготных по любому аллелю. Таким образом, «гибридный» белок — это особая молекулярная форма, присущая только гетерозиготному состоянию. Кроме того, поскольку гетерозиготы получают один аллель от одного родителя, а второй аллель — от другого, такая молекулярная форма может присутствовать у индивидуумов, родители которых ее не имели.

Именно вследствие того, что гемоглобин так легко диссоциирует на димеры, дающие начало «гибридным» формам, оказывается невозможным обнаружить эти гибриды с помощью обычных методов. Однако многие белки, состоящие из нескольких полипептидных цепей, не так легко диссоциируют на субъединицы, и в этом случае удастся выделить возможные «гибридные» формы у гетерозигот.

Ф и г. 13. Электрофорез

2. Пептидаза А

Примером может служить в эритроцитах пептидаза, которая расщепляет дипептиды; ее активность после окрашивания повышается. При электрофорезе в большой группе ферментов встречается фермент А1. Другая группа ферментов встречается у 15-20% населения. Эти ферменты делятся на три типа: А1, А2 и А3. Фермент А1 встречается у 80% населения, А2 — у 15%, А3 — у 5%. Фермент А1 встречается у 80% населения, А2 — у 15%, А3 — у 5%.



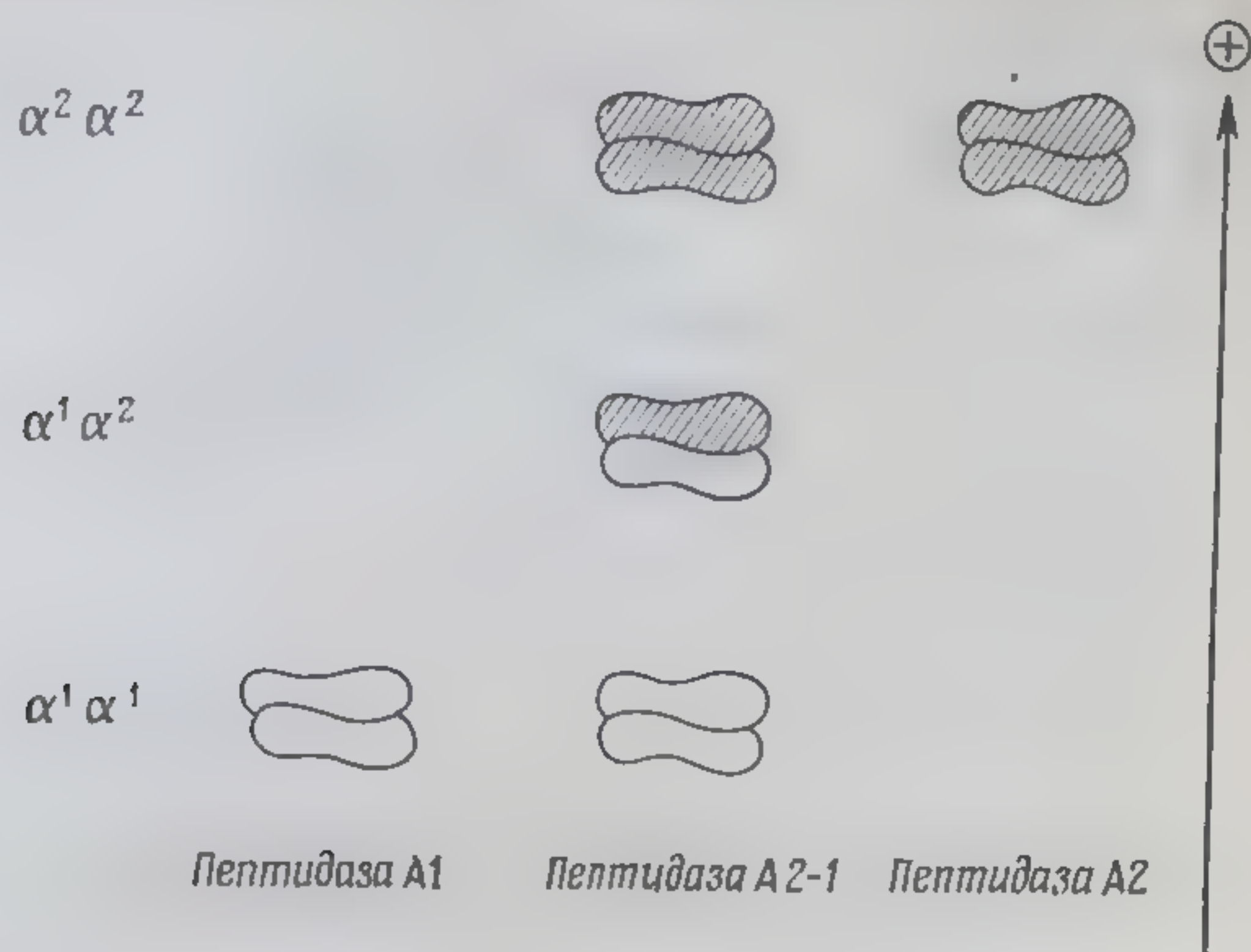
Ф и г. 13. Электрофореграмма пептидазы А трех типов (1, 2-1 и 2).

Электрофорез и окрашивание проводили по [382].

2. Пептидаза А

Примером может служить фермент пептидаза А [382], содержащийся в эритроцитах, а также во многих других тканях. Это дипептидаза, которая, как было показано, гидролизует самые разные дипептиды; ее можно обнаружить с помощью специфического окрашивания после электрофореза.

При электрофоретическом исследовании ферментов эритроцитов большой группы людей было идентифицировано значительное число генетически контролируемых вариантов пептидазы А [381, 382]. У большинства людей обнаруживается вариант, обозначаемый *Per A1*. Другие варианты встречаются очень редко, однако у негров встречаются с значительной частотой два варианта пептидазы А — *Per A2-1* и *Per A2*. Так, во многих районах Африки у 15... 20% населения присутствует *Per A2-1* и примерно у 1% — *Per A2*. Данные обследования семей свидетельствуют о том, что эти три типа пептидазы — *Per A1*, *Per A2-1* и *Per A2* — определяются двумя аутосомными генами (*Per A¹* и *Per A²*). Пептидазы *Per A1* и *Per A2* соответствуют гомозиготному состоянию, а *Per A2-1* — гетерозиготному.



Ф и г. 14. Схема, показывающая предполагаемый состав субъединиц в молекулах пептидазы А трех типов (1, 2-1 и 2).

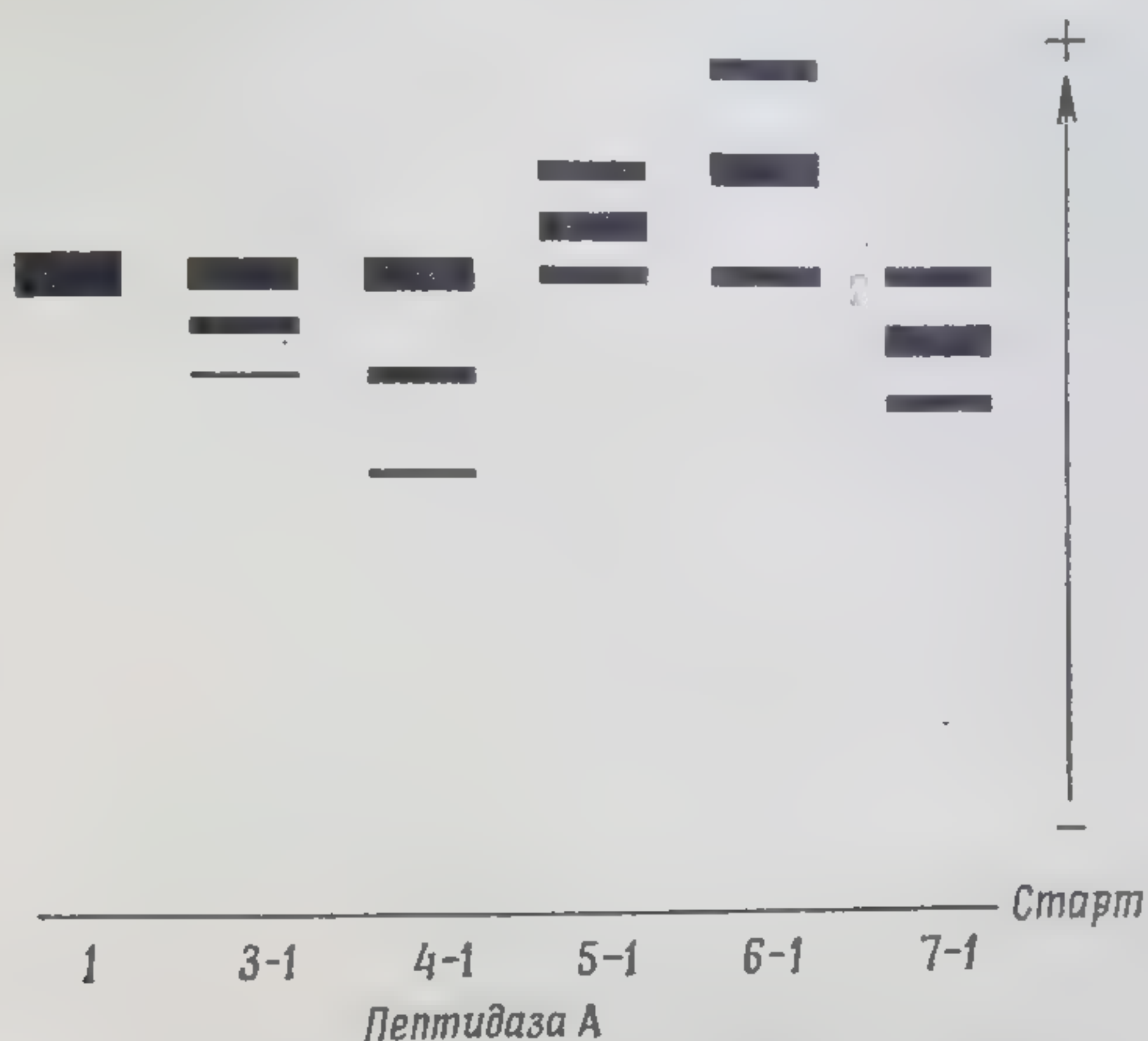
Как в случае *Per A1*, так и в случае *Per A2* большая часть ферментативной активности сосредоточена в единственной электрофоретической зоне, подвижность которой для этих двух типов пептидазы различна (фиг. 13). Однако у гетерозигот обнаруживаются три главные зоны активности, причем одна из них занимает строго промежуточное положение. Такая характерная картина электрофоретического разделения на три полосы наблюдается также у гетерозигот по аллелям, определяющим варианты формы различных ферментов [572]. Легче всего предположить, что у гомозигот ферментный белок состоит из двух идентичных полипептидных субъединиц. Так, в случае пептидазы А можно считать, что аллель *Per A¹* кодирует полипептид α^1 , а аллель *Per A²* — полипептид α^2 . Поскольку различие между аллелями, по-видимому, определяется единичной мутацией, полипептиды α^1 и α^2 , вероятно, отличаются друг от друга по одной аминокислоте. У гетерозигот, у которых присутствуют оба аллеля, должны образоваться оба типа полипептидов (α^1 и α^2). При случайном объединении в димеры возможно одновременно три различных типа ферментного белка (фиг. 14). Два из них, со структурой $\alpha^1\alpha^1$ и $\alpha^2\alpha^2$, соответствуют формам, обнаруживаемым у гомозигот. Третий должен представлять собой гибридный изофермент $\alpha^1\alpha^2$, характерный для гетерозиготного состояния.

Это представление подтверждается экспериментами по «гибридизации» *in vitro*. При электрофорезе смесей возникают только две зоны, соответствующие *Per A1* и *Per A2*. Однако если такую смесь обработать при определенных условиях мочевиной в присутствии меркаптоэтанола и затем подвергнуть анализу, то на электрофореграммах наблюдаются три полосы, аналогичные по-

Ф и г. 15. Схема электрофореза

Дополнены главные электрофоретические

полосы, получаемым для...
...вызывает диссоциацию...
... α^1 и α^2), которые затем...
...соединением гибридной (о...
...Другие варианты...
...*Per A4-1*, *Per A5-1* и...
...этим показало, что...
...причем в каждом слу...
...состоянию по одному...
...аллелю *Per A¹*. При э...
...три полосы, причем...
...ним единственным...
...*Per A1*. Весьма веро...
...дарует определенную...
...(α^1 , α^2 и т. д.), а...
...ответствует гибриду...
...лируемой обычным...
...ответствует единст...
...мозигот по данному...
...редки, соответствую...
...кими, и действие...
...ного у такого гомо...
...единицы в паре...



Ф и г. 15. Схема электрофоретического разделения редких типов пептидазы А (3-1, 4-1, 5-1, 6-1 и 7-1).

Представлены главные электрофоретические компоненты, обнаруживаемые в гемолизатах [381—383].

лосам, получаемым для гетерозигот *Per A2-1* [383]. Такая обработка вызывает диссоциацию ферментных белков на субъединицы (α^1 и α^2), которые затем рекомбинируют по закону случая с образованием гибридной ($\alpha^1\alpha^2$) и исходных ($\alpha^1\alpha^1$ и $\alpha^2\alpha^2$) форм.

Другие вариантные типы пептидазы А (обозначаемые *Per A3-1*, *Per A4-1*, *Per A5-1* и т. д., фиг. 15) очень редки. Обследование семей показало, что они определяются серией редких аллелей, причем в каждом случае фенотип соответствует гетерозиготному состоянию по одному из таких редких аллелей и по обычному аллелю *Per A1*. При электрофорезе этих пептидаз А образуются три полосы, причем один из компонентов всегда бывает идентичным единственному компоненту, характерному для фенотипа *Per A1*. Весьма вероятно, что каждый из этих редких аллелей кодирует определенную, отличную от α^1 полипептидную субъединицу (α^3 , α^4 , α^5 и т. д.), а промежуточная полоса в каждом случае соответствует гибриду этой субъединицы и субъединицы α^1 , контролируемой обычным аллелем *Per A1*. Третья полоса, вероятно, соответствует единственной форме фермента, присутствующей у гомозигот по данному редкому аллелю. Поскольку эти аллели очень редки, соответствующие гомозиготы должны быть еще более редкими; и действительно, до сих пор не удалось обнаружить ни одного такого гомозиготного индивидуума.

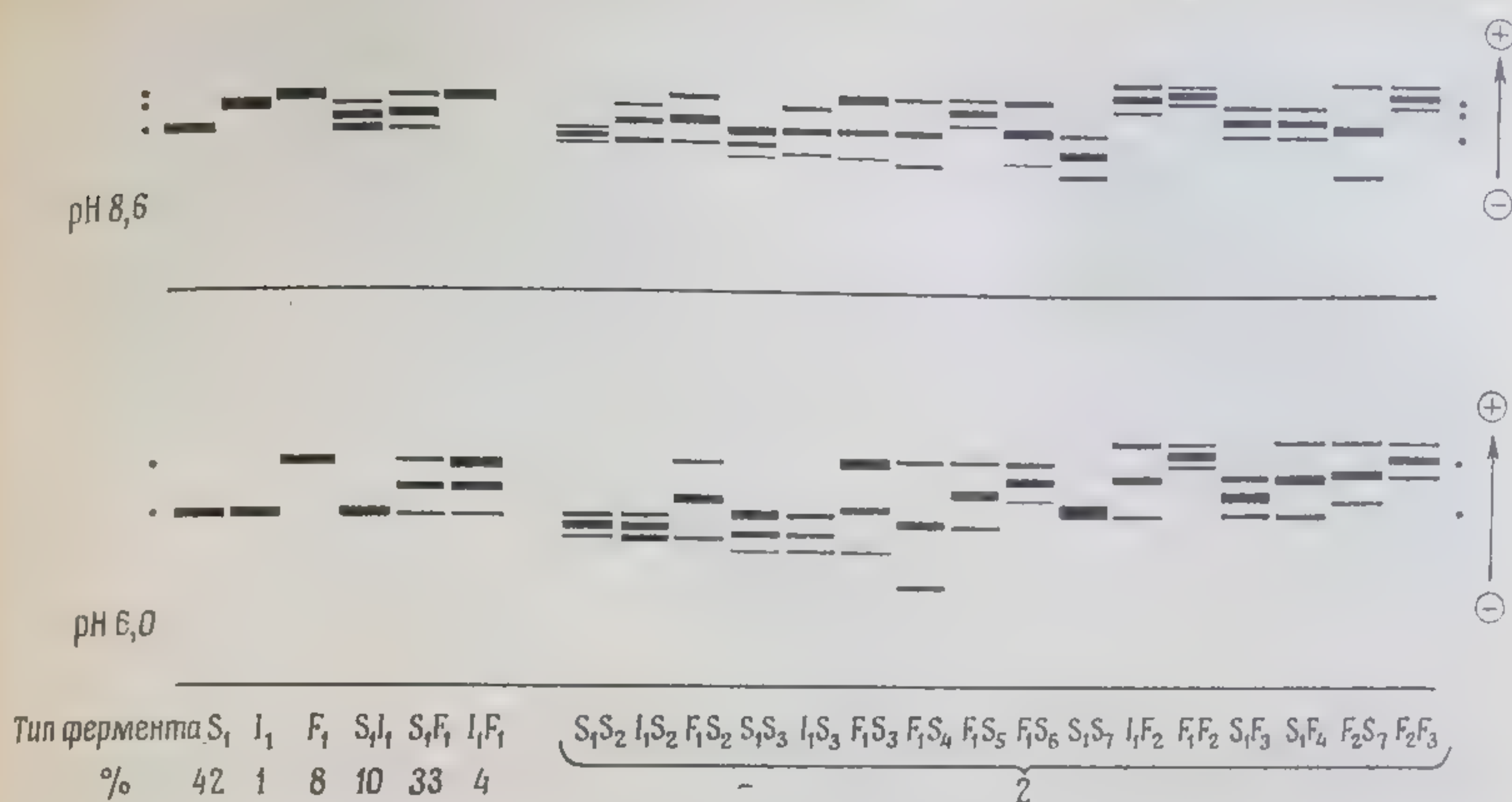
У гетерозигот, у которых две полипептидные субъединицы объединяются в пары с образованием трех различных молекулярных

форм фермента, их относительные количества, обнаруживаемые при электрофорезе, часто сильно варьируют в разных случаях. Это может объясняться разными скоростями синтеза или распада двух полипептидов или же тем, что вклад этих полипептидов в удельную активность фермента различен. Если, например, полипептидные субъединицы α^x и α^y образуются в равных количествах, имеют равную активность и объединяются по закону случая, то три формы — $\alpha^x\alpha^x$, $\alpha^x\alpha^y$ и $\alpha^y\alpha^y$ — должны присутствовать в соотношении 1:2:1, и распределение при электрофорезе должно быть симметричным, причем на долю наиболее медленного и наиболее быстрого компонентов ($\alpha^x\alpha^x$ и $\alpha^y\alpha^y$) будет приходиться по 25% общей активности, а на средний гибридный компонент — 50% активности. Однако если α^x и α^y различаются по своему вкладу в общую активность, то разделение будет асимметричным. Допустим, к примеру, что вклад α^x в общую активность в два раза превышает вклад α^y ; тогда три формы будут присутствовать в соотношении 4:4:1. Если вклад α^x в три раза больше, то соотношение будет 9:6:1, и т. д. На фиг. 15 показаны относительные количества трех компонентов у различных гетерозигот по гену пептидазы А. В некоторых случаях распределение симметрично или почти симметрично. В других же (например, Пер А3-1 и Пер А4-1) наблюдается выраженная асимметрия, причем в этих случаях вклад α^1 -субъединицы явно значительно больше по сравнению с вариантами субъединицами (α^3 или α^4).

3. Щелочная фосфатаза плаценты

Такое же явление наблюдается для щелочной фосфатазы плаценты. Этот фермент присутствует в плаценте в довольно больших количествах. От щелочной фосфатазы, присутствующей в других тканях — печени, костях, тонком кишечнике, почках, — он отличается рядом свойств (иммунологически, по характеру ингибирования, термолабильности и т. д.) и, по-видимому, специфичен для плаценты. Плацентарная щелочная фосфатаза отличается от щелочных фосфатаз других тканей также по своим электрофоретическим свойствам и, кроме того, существованием значительного числа генетически определяемых вариантов.

Обследованные плаценты можно разделить на несколько типов в зависимости от электрофоретических свойств присутствующих в них изоферментов щелочной фосфатазы [69, 527, 529]. На фиг. 16 показаны различные типы электрофоретического распределения изоферментов щелочной фосфатазы, обнаруженные при исследовании нескольких тысяч плацент, проведенном в Англии. Шесть из них (S_1 , F_1 , I_1 , S_1F_1 , S_1I_1 и F_1I_1) встречаются довольно часто (примерно в 42%, 8%, 1%, 33%, 10% и 4% плацент соответственно). Другие, так называемые «редкие» типы, встречаются не столь часто, но все вместе они обнаруживаются в 2% обследованных случаев.



Ф и г. 16. Схема электрофоретического разделения плацентарной щелочной фосфатазы различных типов при рН 8,6 и 6,0.

Показаны только главные компоненты. Подробности см. в работе [529]. Цифры внизу — частота обычных типов фермента среди населения Англии.

Для наилучшего разделения различных типов щелочной фосфатазы плаценты необходимо проводить электрофорез хотя бы при двух разных значениях рН (обычно при рН 8,6 и рН 6,0). В электрофоретическом поведении шести обычных типов плацентарной щелочной фосфатазы, представленных на фиг. 16, имеются существенные различия. Если для типов S_1 , F_1 и I_1 характерно то, что бо́льшая часть ферментативной активности соответствует единственному компоненту при обоих значениях рН, то для типов S_1F_1 , S_1I_1 и F_1I_1 наблюдается иная картина: здесь при любом из этих значений рН обнаруживаются три компонента. При этом два крайних компонента соответствуют двум из единичных компонентов, характерных для S_1 , F_1 и I_1 , тогда как средний компонент в каждом случае обладает строго промежуточной подвижностью. Все редкие типы дают при электрофорезе три полосы, причем один из крайних компонентов имеет обычно ту же подвижность, что и единственный компонент типов S_1 , F_1 или I_1 ; второй крайний компонент характерен для данного редкого типа; средний компонент опять-таки занимает строго промежуточное положение.

Детальный генетический анализ [529]¹ показал, что шесть обычных типов плацентарной щелочной фосфатазы определяются тремя обычными аллелями [527, 529]¹. Типы S_1 , F_1 и I_1 соответствуют трем гомозиготным генотипам, а типы S_1F_1 , S_1I_1 и F_1I_1 — гетерозиготным. Различные редкие типы, очевидно, определяются редкими аллелями в гетерозиготных комбинациях с тем или иным из трех обычных аллелей. Очень редкий тип (например, F_2F_3 , фиг. 16) может определяться гетерозиготной комбинацией двух

различных редких аллелей или одним из таких редких аллелей в гомозиготном состоянии.

Эти и другие исследования по плацентарной щелочной фосфатазе дают основание предполагать, что этот ферментный белок представляет собой димер, состоящий из двух полипептидных субъединиц, и что возможно множество различных субъединиц, каждая из которых кодируется своим аллелем гена плацентарной щелочной фосфатазы. У гомозигот синтезируются полипептидные субъединицы одного вида и, следовательно, образуются одинаковые димеры. У гетерозигот синтезируются полипептиды двух видов и соответственно образуется три типа димеров. Два из них характерны для соответствующих гомозигот, тогда как димеры третьего типа представляют собой «гибридные» ферменты, построенные из полипептидов обоих видов и обладающие промежуточными электрофоретическими свойствами.

Интересно сравнить относительную активность трех компонентов в случае обычных гетерозиготных типов: F_1S_1 , S_1I_1 и F_1I_1 . Для F_1S_1 распределение активности симметрично, активность среднего компонента составляет сумму активностей крайних компонентов, которые приблизительно равны. Для S_1I_1 и F_1I_1 распределение активностей асимметрично. Средний компонент имеет ту же активность, что и один из крайних компонентов, тогда как активность второго крайнего компонента значительно ниже. В обоих случаях активность компонента с подвижностью, характерной для типа I_1 , оказывается более низкой. Следовательно, полипептидная субъединица α_1^I , определяемая аллелем I_1 , вносит меньший вклад в активность фермента у гетерозигот, чем полипептидные субъединицы α_1^S и α_1^F , контролируемые двумя другими обычными аллелями. Аналогичное асимметричное распределение отмечено также для некоторых редких гетерозиготных типов. Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в случае S_1I_1 и F_1I_1 такая асимметрия обусловлена значительно меньшей стабильностью полипептидной субъединицы α_1^I по сравнению с субъединицами α_1^S и α_1^F ; α_1^I in vivo разрушается гораздо быстрее. Различия в стабильности субъединиц могут быть причиной асимметричного распределения и в случае некоторых редких типов. Другая возможная причина — различия в кинетике ферментативного процесса или в скорости синтеза полипептидов, кодируемых двумя аллелями.

4. Другие ферменты

Вообще любой фермент, состоящий более чем из двух полипептидных цепей, из которых по крайней мере две идентичны у гомозигот, может существовать у гетерозигот в «гибридной» форме. В простейшем случае белок содержит только две полипептидные субъединицы, кодируемые единственным локусом и, следовательно, идентичные в гомозиготном состоянии. При этом у гетерозигот

Гибридные

1. Лактатдегидрогеназа
2. Щелочная фосфатаза
3. Фосфогексоизомераза
4. 6-фосфоглюконатдегидрогеназа
5. Пептидаза А
6. Пептидаза D (пролидаза)
7. Малатдегидрогеназа
8. Малатдегидрогеназа (эритроцитная)
9. «Оксидаза» эритроцитов

Гибридные

1. Фосфоглюкомутаза
2. Аденилаткиназа
3. Карбоангидраза
4. Аденозиндезаминаза
5. Метгемоглобинредуктаза
6. Пептидаза В
7. Кислая фосфатаза
8. Ацетилэстераза
9. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

могут присутствовать три различных белковых компонента, причем один из них «гибридный». В тех случаях, когда в гомозиготном состоянии белок содержит более двух идентичных полипептидов, картина образования «гибридов» в гетерозиготах будет более сложной. Например, если тетрамер состоит из четырех идентичных субъединиц у гомозигот, то у гетерозигот возможны пять разных белков, три из которых будут гибридами. В общем виде это выглядит так. Если один аллель определяет полипептидную субъединицу α^x , а другой — субъединицу α^y , так что молекулярная структура белка у гомозигот будет либо α_4^x , либо α_4^y , то у гетерозигот могут присутствовать помимо этих двух молекулярных форм также гибриды $\alpha_3^x\alpha_1^y$, $\alpha_2^x\alpha_2^y$ и $\alpha_1^x\alpha_3^y$, как это наблюдается в случае лактатдегидрогеназы (см. ниже).

Ниже мы приводим ряд ферментов человека, разделенных на две группы в зависимости от того, выявляется ли у гетерозиготных индивидуумов при электрофорезе только смесь компонентов, присутствующих у двух соответствующих типов гомозигот, или же сверх того имеются еще и «гибридные» формы (одна или больше).

Гибридные формы у гетерозигот обнаружены

1. Лактатдегидрогеназа	(стр. 53)
2. Щелочная фосфатаза плаценты	(стр. 44)
3. Фосфогексоизомеразы	[138]
4. 6-фосфоглюконатдегидрогеназа	[484]
5. Пептидаза А	(стр. 41)
6. Пептидаза D (пролидаза)	[384]
7. Малатдегидрогеназа (растворимый фермент)	[126]
8. Малатдегидрогеназа (митохондриальный фермент)	[127]
9. «Оксидаза» эритроцитов (индофенолоксидаза)	[87]

Гибридные формы у гетерозигот не обнаружены

1. Фосфоглюкомутаза	(стр. 59)
2. Аденилаткиназа	[170]
3. Карбоангидраза	[629]
4. Аденозиндезаминаза	[603]
5. Метгемоглобинредуктаза	[320]
6. Пептидаза В	[382]
7. Кислая фосфатаза эритроцитов	(стр. 144)
8. Ацетилэстераза эритроцитов	[628]
9. Глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназа	(стр. 131)

По-видимому, «гибридные» ферменты образуются примерно в половине случаев. Следовательно, образование «гибридов» — явление довольно распространенное; этот вывод напрашивается

хотя бы потому, что приведенные выше ферменты попали в таблицу в сущности говоря совершенно случайно: просто так случилось, что для них были обнаружены аллельные варианты и разработана соответствующая электрофоретическая методика, позволяющая их изучать. Поэтому в том, что касается состава субъединиц этих ферментов и тенденции к образованию гибридов у гетерозигот, они могут служить типичными представителями ферментов вообще.

Если у гетерозиготного индивидуума обнаружены «гибридные» компоненты, то это означает, что рассматриваемый белок состоит из двух или более полипептидных субъединиц, причем по крайней мере некоторые из них идентичны у соответствующих гомозигот. Ферменты или белки, состоящие из одной полипептидной цепи, не должны образовывать подобного рода гибридов, и в этом случае при электрофорезе у гетерозигот должна выявляться смесь различных молекулярных форм, обнаруживаемых у соответствующих гомозигот. Однако необходимо отметить, что не обнаружив «гибриды» у гетерозигот, еще нельзя считать, что фермент представляет собой мономер. Отсутствие или видимое отсутствие «гибридов» в тех случаях, когда фермент представляет собой мультимер, может быть обусловлено рядом причин. Одна из них — диссоциация ферментного белка на субъединицы, как это, например, характерно для гемоглобина, вследствие чего при электрофорезе или хроматографии гибридные формы теряются. Имеется и другая возможность: полипептидные цепи могут обладать структурными особенностями, препятствующими их ассоциации в одну мультимерную молекулу или ограничивающими такую ассоциацию. Возможна и еще одна причина. Полипептидные продукты двух аллелей могут синтезироваться в организме в разных клетках и, следовательно, лишены возможности объединиться в единую белковую молекулу. Так, гибриды глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы, определяемой геном, расположенным в X-хромосоме, образуются *in vitro* [703], но не обнаруживаются у женщин, гетерозиготных по соответствующему гену. Как полагают, дело здесь в том, что один из двух аллелей, присутствующих в клетках у таких женщин, функционально не активен, поскольку он локализован в так называемой «инактивированной» X-хромосоме (стр. 139). Вероятно, это справедливо и для других мультимерных ферментов, полипептидные цепи которых кодируются генами, расположенными в X-хромосоме.

II. ПОЛИПЕПТИДНЫЕ ЦЕПИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ НЕСКОЛЬКИМИ ГЕННЫМИ ЛОКУСАМИ (ГЕМОГЛОБИН)

До сих пор мы рассматривали главным образом влияние мутаций в одном генном локусе на структуру белков. Теперь мы рассмотрим более сложный случай, когда в определении структу-

ры белка или набора близко родственных белков участвует более одного генного локуса. Здесь опять-таки хорошим примером служит гемоглобин.

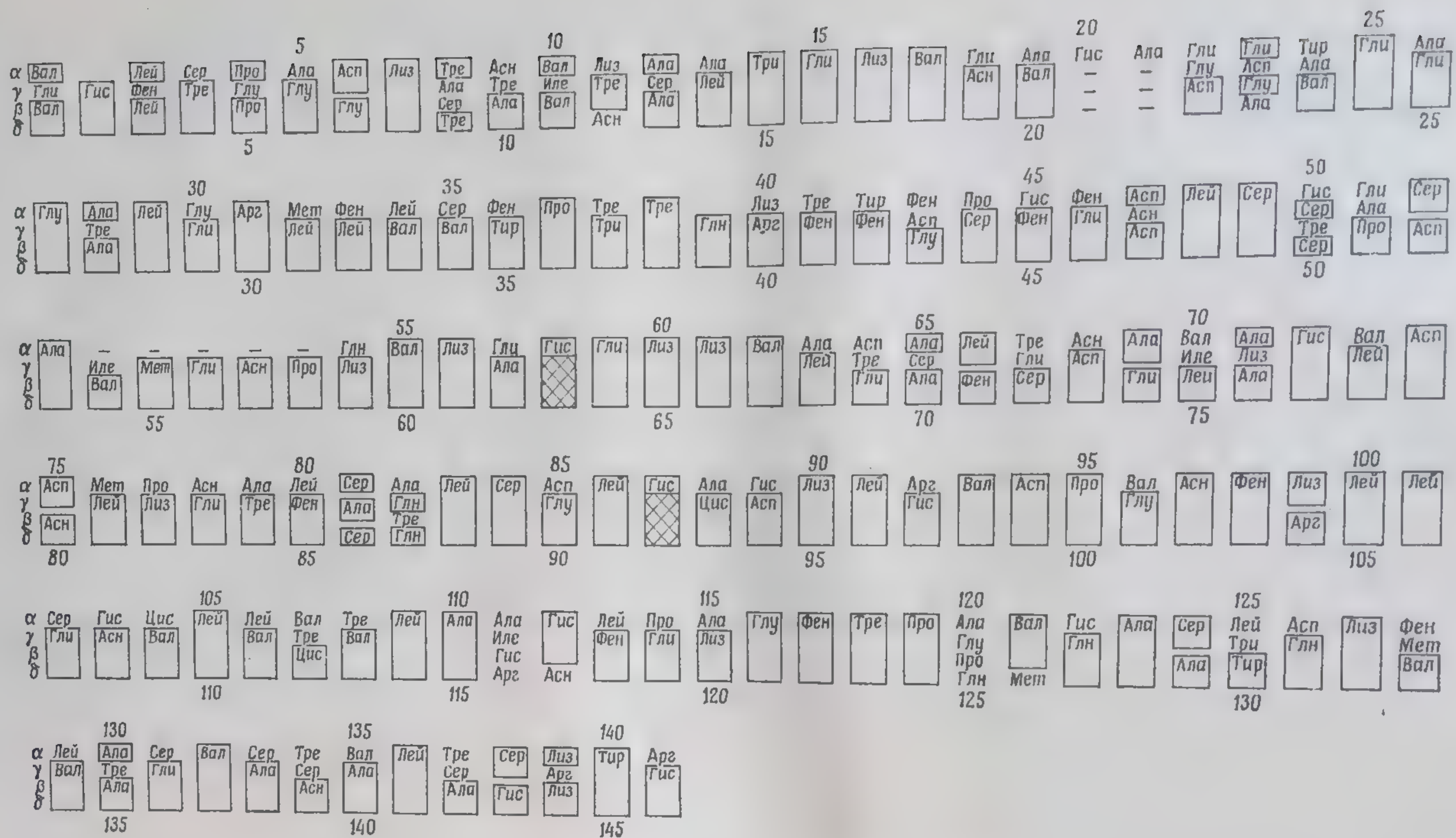
В эритроцитах здоровых взрослых людей присутствует в основном HbA, о котором мы уже говорили. Однако в эритроцитах плода преобладает другая форма гемоглобина, который так и называется: гемоглобин плода, или эмбриональный гемоглобин (HbF). HbF отличается деталями структуры от HbA, однако по своей трехмерной конформации и по большинству свойств эти два гемоглобина очень схожи между собой. У новорожденных около 70...80% гемоглобина составляет HbF, почти все остальное приходится на HbA. Это соотношение быстро изменяется в течение нескольких первых месяцев после рождения, так что к 6...12 мес. остаются только следы HbF и начинает преобладать HbA.

У нормальных индивидуумов найдена еще одна молекулярная форма гемоглобина, обозначаемая HbA₂. Этот гемоглобин присутствует в эритроцитах взрослых людей вместе с HbA, но на него приходится лишь 2,5% всего имеющегося гемоглобина. По-видимому, HbA₂ синтезируется одновременно с HbA, но с значительно меньшей скоростью.

Молекулы HbA₂ и HbF так же, как и HbA, состоят из полипептидных цепей двух типов, каждая из которых представлена в молекуле два раза. α -Цепь HbA₂ и HbF идентична α -цепи HbA. Эти гемоглобины отличаются от HbA и друг от друга второй цепью (у HbA₂ это δ -цепь, а у HbF — γ -цепь). Таким образом, для трех типов гемоглобина можно записать следующие формулы:

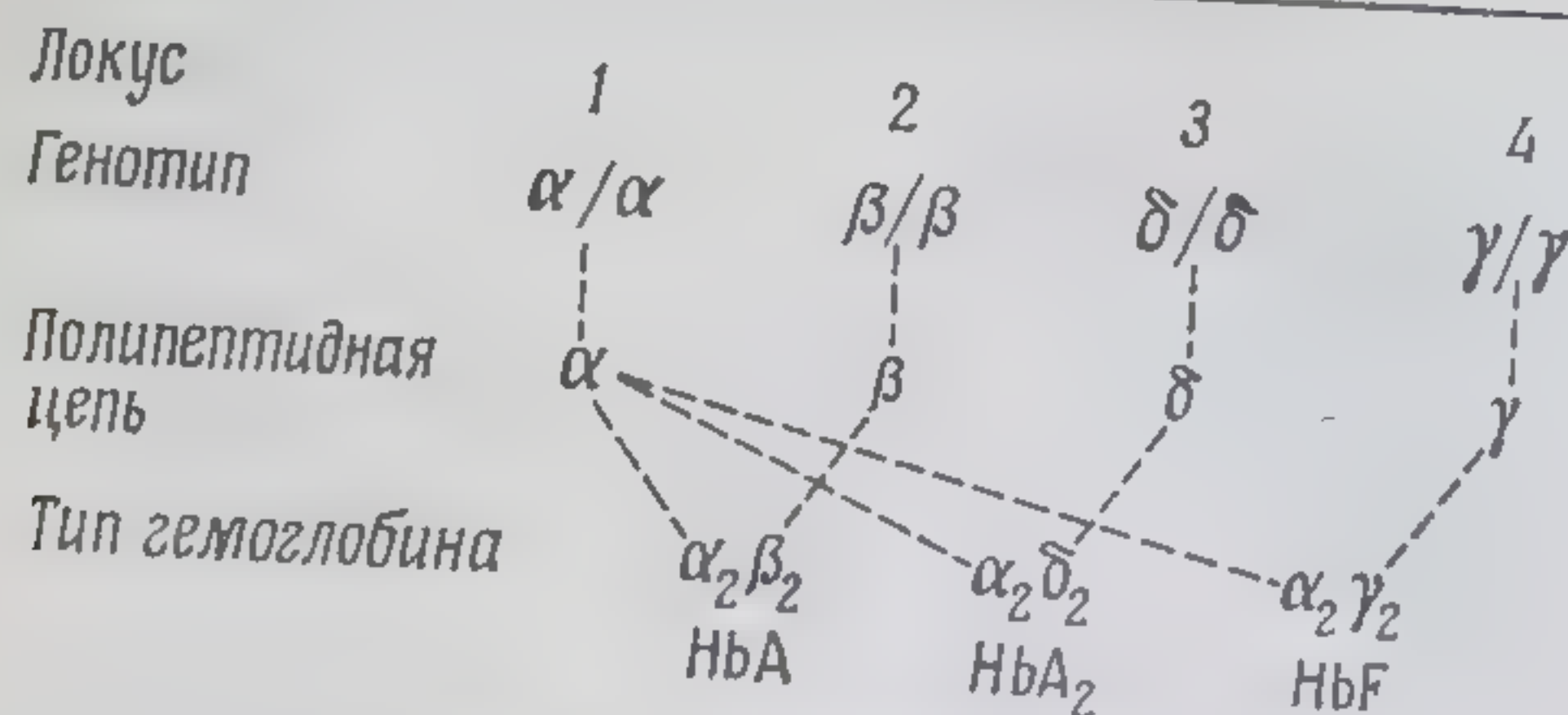
HbA	$\alpha_2\beta_2$
HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$
HbF	$\alpha_2\gamma_2$

В δ - и γ -цепях, как и в β -цепи, содержится по 146 аминокислотных остатков, причем последовательности этих остатков во всех трех цепях имеют много общего (фиг. 17). β -Цепь и δ -цепь имеют одинаковые аминокислотные остатки в 136 положениях и различаются только по остаткам в 10 положениях. В γ -цепи аминокислотные остатки, идентичные остаткам β -цепи, присутствуют в 107 положениях, а идентичные остаткам δ -цепи — в 105 положениях. Много общего также между последовательностями аминокислот в β -, δ - и γ -цепях, с одной стороны, и в α -цепи — с другой. Точное сравнение этих полипептидных цепей затруднено, поскольку в α -цепи на 5 аминокислотных остатков меньше. Однако после того как были сделаны обоснованные предположения относительно «пропущенных» аминокислот в α -цепи, удалось показать, что аминокислотные последовательности α - и β -цепей соответствуют друг другу примерно на 46%. Столь значительная степень гомологии этих полипептидных цепей свидетельствует о том, что все они эволюционно происходят от какой-то одной исходной



Ф и г. 17. Аминокислотные последовательности α -, β -, γ - и δ -полипептидных цепей гемоглобина [372].

Идентичные аминокислоты заключены в рамки. Остатки гистидина, связанные с гемогруппой, заштрихованы. Аминокислоты α -цепи (141) пронумерованы сверху, а аминокислоты β -, γ - и δ -цепей (146) пронумерованы снизу. «Пропуски» аминокислот в α -цепи расположены таким образом, чтобы обеспечить максимальную гомологию аминокислотных последовательностей. Сокращенные обозначения аминокислот см. в подписи к фиг. 6.

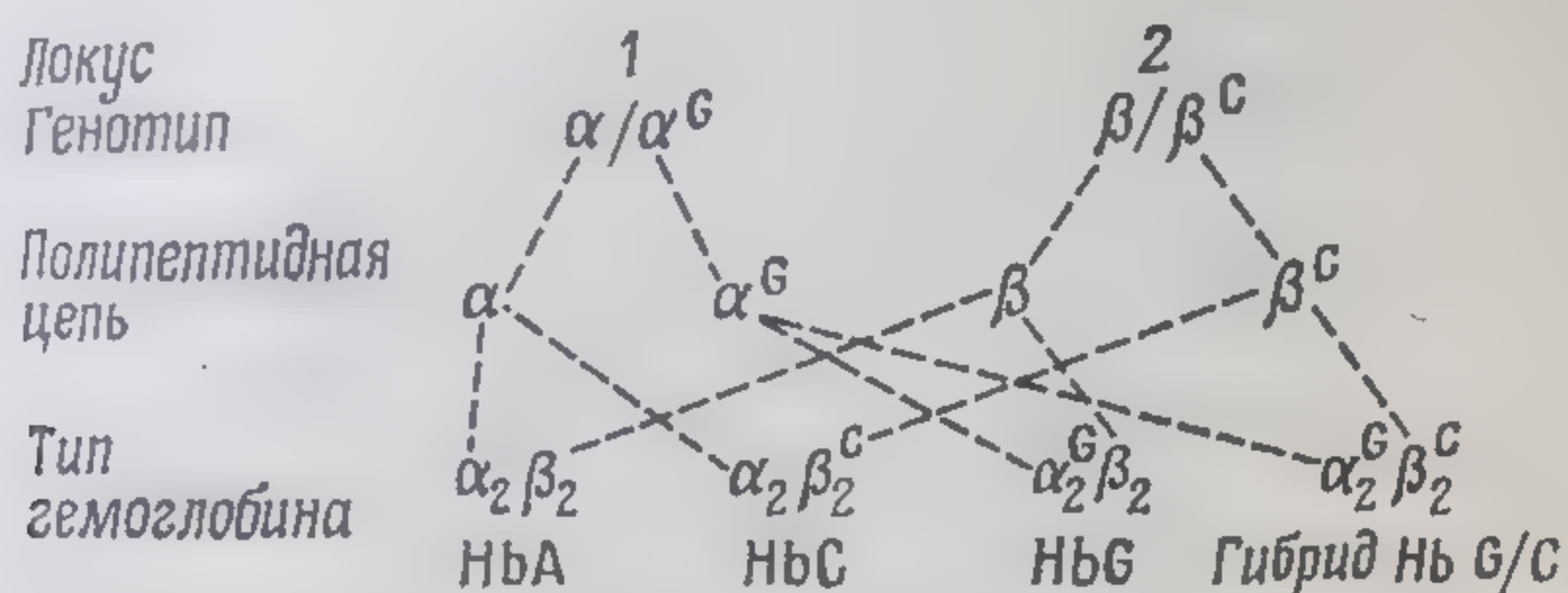


Ф и г. 18. Образование гемоглобина А, А₂ и F в норме.

формы. Этот вопрос более подробно рассматривается ниже (гл. III).

В норме встречаются все четыре типа цепей (α , β , γ и δ), но поскольку эти полипептиды в той или иной степени различаются по своим аминокислотным последовательностям, можно предположить, что они определяются разными генными локусами. Как показано схематически на фиг. 18, в определении структуры трех нормальных гемоглобинов А, А₂ и F участвует по крайней мере четыре генных локуса. Отсюда следует одно важное заключение: мутация локуса, определяющего α -цепь, должна вызвать появление вариантных форм всех трех гемоглобинов. В то же время мутация любого из локусов, определяющих β -, δ - и γ -цепи, должна сопровождаться появлением вариантной формы лишь одного гемоглобина — того, который в норме содержит полипептидную цепь, соответствующую данному локусу. К настоящему времени идентифицировано значительное число вариантов HbA₂ и HbF, и полученные данные полностью соответствуют этому предположению. У гетерозигот по мутантному аллелю β -, δ - или γ -локусов образуется единственная вариантная форма гемоглобина; например, у носителей гена серповидноклеточности, когда изменен locus β , гемоглобин А₂($\alpha_2\delta_2$) и гемоглобин F($\alpha_2\gamma_2$) остаются нормальными. В то же время у индивидуумов, гетерозиготных по мутантному аллелю локуса α , синтезируются и вариантные и нормальные формы каждого из трех видов гемоглобина.

На ранних стадиях эмбрионального развития синтезируется еще одна разновидность полипептидной цепи гемоглобина, ϵ -цепь [275]. Аминокислотная последовательность ϵ -цепи еще не расшифрована окончательно, однако она, вероятно, отличается от последовательностей α -, β -, γ - и δ -цепей. Несколько «эмбриональных» гемоглобинов с возможной структурой ϵ_4 , $\alpha_2\epsilon_2$ и $\gamma_2\epsilon_2$ обнаружено в значительных количествах на ранних стадиях эмбриогенеза, а в небольших количествах они найдены на более поздних стадиях развития плода. Конечно, такие гемоглобины исследовать особенно трудно, и варианты ϵ -цепи до сих пор не обнаружены. Однако весьма вероятно, что эта цепь определяется особым генным локусом, отличным от локусов, кодирующих α -, β -, γ - и δ -цепи.



Ф и г. 19. Образование гемоглобинов A, C, G и G/C у двойных гетерозигот (по аллелю α -локуса, определяющему вариантный полипептид α^G , и по аллелю β -локуса, определяющему полипептид β^C).

Оказалось, кроме того, что в норме образуются две несколько различающихся γ -цепи. В одной из них в положении 136 стоит глицин, а в другой — аланин [559]. Согласно имеющимся данным, две эти γ -цепи кодируются разными локусами. Если это так, то в определении структуры полипептидных цепей, составляющих разные молекулярные формы гемоглобина, у человека в норме участвует не менее шести различных локусов.

Общая гипотеза, заключающаяся в том, что каждая полипептидная цепь гемоглобина определяется отдельным локусом, довольно хорошо согласуется с биохимическими данными, полученными на индивидуумах, гетерозиготных по локусу α -цепи и по какому-либо другому локусу. При этом образуется особенно сложная смесь гемоглобинов [28, 412].

В качестве примера [677] можно рассмотреть случай гетерозиготы по мутантному аллелю α -локуса, определяющему вариантную полипептидную цепь α^G ($\alpha^{68\text{Asn}} \rightarrow \text{Лиз}$), и, кроме того, по аллелю HbC, определяющему вариантную полипептидную цепь β^C ($\beta^{67\text{Glu}} \rightarrow \text{Лиз}$). В этом случае синтезируется два типа α -цепей и два типа β -цепей, и при электрофорезе выявляются 4 разных гемоглобина, содержащих цепи α - и β -типа (фиг. 19): нормальный HbA ($\alpha_2\beta_2$), HbC ($\alpha_2\beta_2^C$), HbG ($\alpha_2^G\beta_2$) и новый гемоглобин $\alpha_2^G\beta_2^C$, содержащий одновременно вариантную α - и вариантную β -цепь.

У такого индивидуума во взрослом состоянии должны иметься также в небольшом количестве HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) и вариантный HbA₂^G ($\alpha_2^G\delta_2$), а в период внутриутробного развития и сразу после рождения должен преобладать HbF ($\alpha_2\gamma_2$) и вариантный HbF^G ($\alpha_2^G\gamma_2$), а поскольку имеется два типа γ -цепей, каждый из этих типов гемоглобина также должен существовать в двух разновидностях. Сверх того, в эритроцитах такого индивидуума должны еще присутствовать и различные «гибридные» формы молекул гемоглобина ($\alpha_2\beta\beta^C$ и $\alpha\alpha^G\beta_2$), хотя их невозможно обнаружить с помощью обычного электрофоретического или хроматографического анализа гемолизатов (по причинам, которые обсуждались выше).

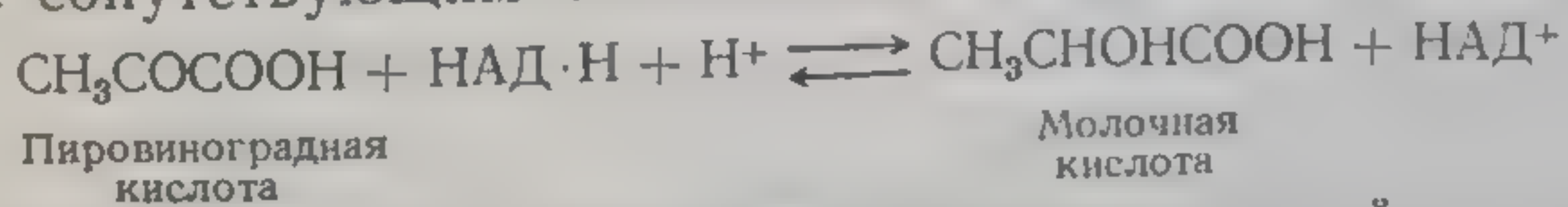
Таким образом, наличие множественных генных локусов, определяющих несколько различных полипептидных цепей, приводит к возникновению у человека в норме очень сложного набора молекул гемоглобина, и эта сложность значительно возрастает, если индивидуум гетерозиготен по одному или нескольким таким локусам.

Гемоглобин гораздо лучше изучен в отношении структуры и генетики его вариантов, нежели любой другой белок человека. Однако сейчас уже имеются достоверные, пусть и менее полные данные, свидетельствующие о том, что структура многих других белков также определяется двумя или несколькими генными локусами. Впрочем, это явление, хотя и обычное, отнюдь нельзя считать универсальным, поскольку известны многочисленные белки, состоящие из полипептидных цепей одного типа, кодируемые единственным локусом.

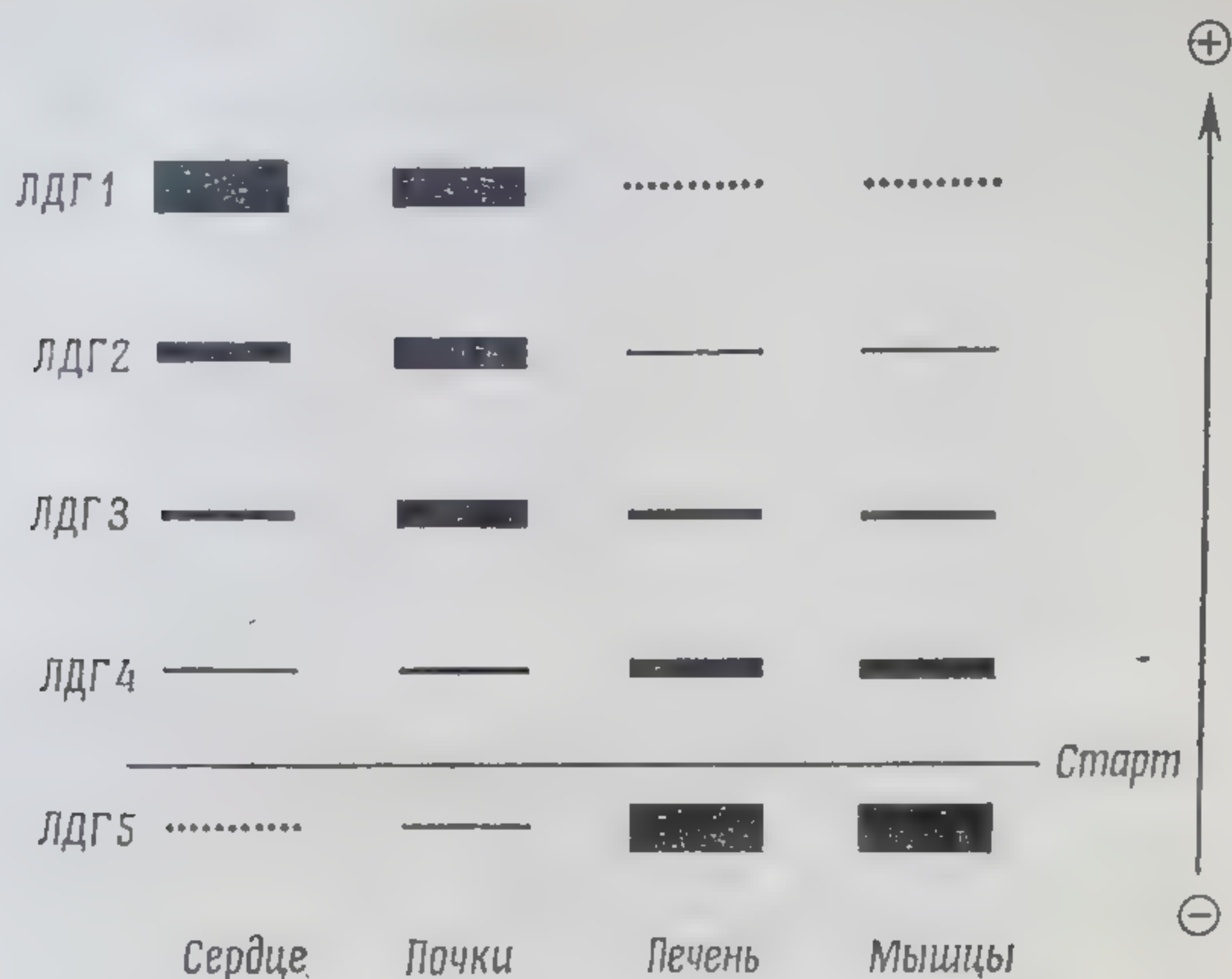
Итак, если какой-нибудь ферментный или иной белок определяется двумя или более локусами, каждый из которых кодирует аминокислотную последовательность определенной, отличной от других полипептидной цепи, то у людей в норме часто удается обнаружить несколько молекулярных форм белка. Число таких форм и их свойства и характеристики будут зависеть от того, объединяются ли полипептидные продукты нескольких локусов в единую молекулу или нет, а также от типов возможных комбинаций. В качестве примера рассмотрим два фермента: *лактатдегидрогеназу* и *фосфоглюкомутазу*. В определении структуры этих ферментных белков участвует несколько локусов, и потому существуют их множественные формы (часто называемые изоферментами, см. ниже).

III. ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА

Лактатдегидрогеназа (L-лактат : НАД — оксидоредуктаза) — это ключевой фермент углеводного обмена, присутствующий во всех тканях. Он катализирует взаимопревращения лактата и пирувата с сопутствующим окислением и восстановлением НАД:



При электрофорезе экстрактов различных тканей можно выделить по меньшей мере пять различных белков (изоферментов), обладающих лактатдегидрогеназной активностью. Оказалось, что относительное количество различных изоферментов сильно варьирует в разных тканях. На фиг. 20, в частности, показано, что электрофоретические свойства лактатдегидрогеназы сердечной мышцы и почек резко отличаются от свойств фермента из печени или скелетных мышц. Всего обнаружено пять изоферментов, которые обозначают в порядке их электрофоретической подвижности

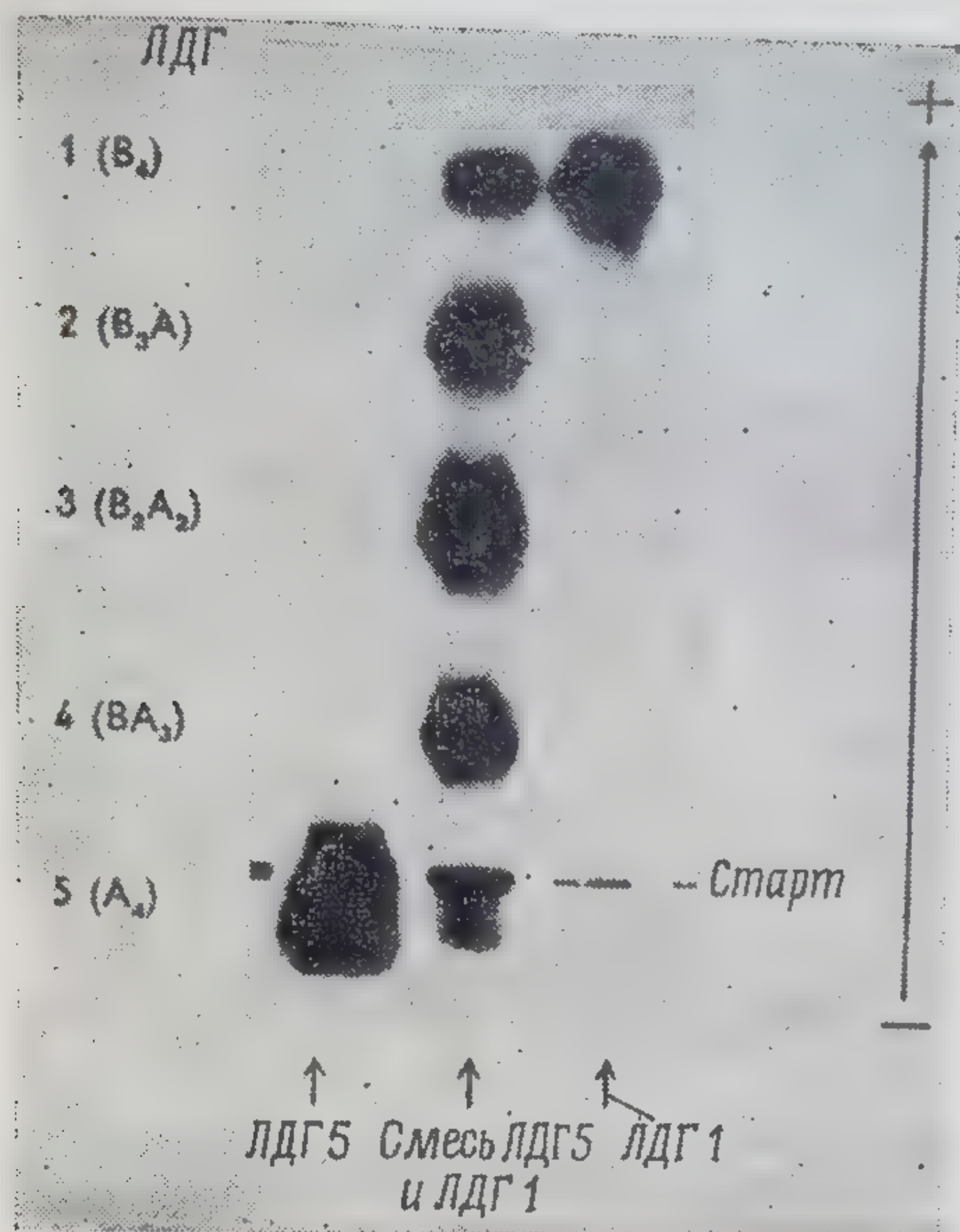


Ф и г. 20. Распределение изоферментов лактатдегидрогеназы в различных органах.

к аноду при щелочных значениях pH следующим образом: ЛДГ 1, ЛДГ 2, ЛДГ 3, ЛДГ 4 и ЛДГ 5. В сердечной мышце и в почках содержится главным образом ЛДГ 1; кроме ЛДГ 1 в этих органах присутствуют также другие изоферменты, но в значительно меньших количествах, причем их относительная активность уменьшается от ЛДГ 2 к ЛДГ 5. В скелетных мышцах и в печени содержится главным образом ЛДГ 5, и соотношение активностей различных изоферментов оказывается прямо противоположным.

Все эти лактатдегидрогеназы представляют собой тетрамеры [13, 416, 417], причем полипептидные субъединицы могут быть двух типов, обозначаемых обычно А и В (или М и Н). Структура субъединиц в деталях пока неизвестна, однако сравнение их аминокислотного состава и данные хроматографии (метод «отпечатков пальцев») показывают, что они при сходных размерах молекулы сильно различаются по аминокислотным последовательностям. Были получены убедительные данные, свидетельствующие о том, что пять характерных изоферментов имеют следующий состав: ЛДГ 1 — B_4 , ЛДГ 2 — AB_3 , ЛДГ 3 — A_2B_2 , ЛДГ 4 — A_3B и ЛДГ 5 — A_4 .

Характерное распределение изоферментов ЛДГ в разных тканях можно в основном объяснить исходя из предположения, что в организме обычно синтезируются субъединицы обоих типов, но в неодинаковом количестве, а наблюдаемое относительное содержание изоферментов определяется тем, что объединение субъединиц происходит по закону случая. Очевидно, в скелетных мышцах субъединица А присутствует в большом избытке по сравнению



Ф и г. 21. Диссоциация и рекомбинация субъединиц лактатдегидрогеназы [416].
 Препараты ЛДГ1 (B_4) и ЛДГ5 (A_4) и их смеси в равных пропорциях в 1 М NaCl замораживали на ночь. Электрофореграмма получена после оттаивания образцов. В смешанном препарате присутствуют все пять изоферментов (приблизительно в соотношении 1 : 4 : 6 : 4 : 1), т. е. ЛДГ1 (B_4), ЛДГ2 (B_3A), ЛДГ3 (B_2A_2), ЛДГ4 (BA_3) и ЛДГ5 (A_4).

с субъединицей В, так что преобладающей формой является ЛДГ 5; другие изоферменты присутствуют здесь в меньшем количестве: ЛДГ 4 > ЛДГ 3 > ЛДГ 2 > ЛДГ 1. В сердечной мышце, наоборот, содержится большой избыток субъединиц В, так что распределение изоферментов здесь будет иным: ЛДГ 1 > ЛДГ 2 > ЛДГ 3 и т. д. В эксперименте удастся вызвать диссоциацию различных изоферментных белков [416] на субъединицы и затем провести рекомбинацию этих субъединиц и получить продукты, обладающие ферментативной активностью (фиг. 21). С помощью этого метода из смесей, содержащих в различных соотношениях очищенные ЛДГ 1 (B_4) и ЛДГ 5 (A_4), удастся получить характерные картины распределения изоферментов, соответствующие тому, что наблюдается для разных тканей. Подобные эксперименты [650] показали, что в скелетных мышцах и в клетках печени человека отношение А:В может быть порядка 10:1, тогда как для сердечной мышцы это отношение составляет примерно 1:20, а для почек — 1:10.

Многочисленные исследования посвящены сравнению свойств изоферментов лактатдегидрогеназы. Обнаружены значительные различия между ЛДГ 1 (B_4) и ЛДГ 5 (A_4); они касаются величины K_m , способности реагировать с различными аналогами НАД, ингибирования избытком субстрата, термостабильности и других свойств. Эти различия, вероятно, сказываются на функциональных особенностях изоферментов и потому совершенно естественно было бы ожидать, что характер распределения в той или иной ткани связан с метаболическими особенностями данной ткани. Некоторая общая корреляция и в самом деле отмечается; так, например, в тканях, часто испытывающих недостаток кислорода [94, 688], преобладают субъединицы А; однако полную картину возможной функциональной связи такого рода еще только предстоит выяснить [321, 652].

Можно ожидать, что полипептидные субъединицы А и В кодируются разными генами. Если это так, то эффект мутаций на изоферменты лактатдегидрогеназы будет зависеть от того, происходят ли они в локусе, определяющем полипептид А, или в локусе, определяющем полипептид В. Так, мутация в локусе А не должна влиять на ЛДГ 1, поскольку этот изофермент не содержит субъединиц А. Вместе с тем она должна воздействовать в разной степени на ЛДГ 2, ЛДГ 3, ЛДГ 4 и ЛДГ 5, содержащие соответственно 1, 2, 3 и 4 субъединицы А. Аналогично мутация в локусе В не должна затрагивать ЛДГ 5, в отличие от остальных четырех изоферментов.

У гетерозигот должен синтезироваться очень сложный набор изоферментов, причем некоторые особенности общего распределения ожидаемых в разных случаях вариантных белков можно предсказать. Так, у индивидуума, гетерозиготного по локусу А, но гомозиготного по нормальному аллелю локуса В, возможны 15 изоферментов (они приведены в третьем столбце табл. 3), распределение которых будет иным, нежели у индивидуума, гетерозиготного по локусу В, но гомозиготного по локусу А (см. четвертый столбец табл. 3). Соотношение нормальных и вариантных изоферментов должно определяться соотношением нормальных и вариантных полипептидов, доступных для образования тетрамеров. Так, если в результате мутации в локусе А образуются равные количества вариантного полипептида А и нормального полипептида А и если ассоциация в тетрамеры осуществляется случайно, то 2 изофермента, соответствующих ЛДГ 2, должны присутствовать в отношении 1:1, 3 изофермента, соответствующих ЛДГ 3, — в соотношении 1:2:1, 4 изофермента, соответствующих ЛДГ 4, — в соотношении 1:3:3:1 и 5 изоферментов, соответствующих ЛДГ 5, — в соотношении 1:4:6:4:1. Эти соотношения будут одинаковыми во всех тканях, но общее распределение, наблюдаемое в каждой данной ткани, будет, разумеется, коррелировать с относительными количествами пяти изоферментов, при-

* Вариантные субъединицы А и В. В самом деле, все они сравнимы по своим свойствам. Исследования, связанные с какой-либо картиной электрофореза, показали, что

ТАБЛИЦА 3

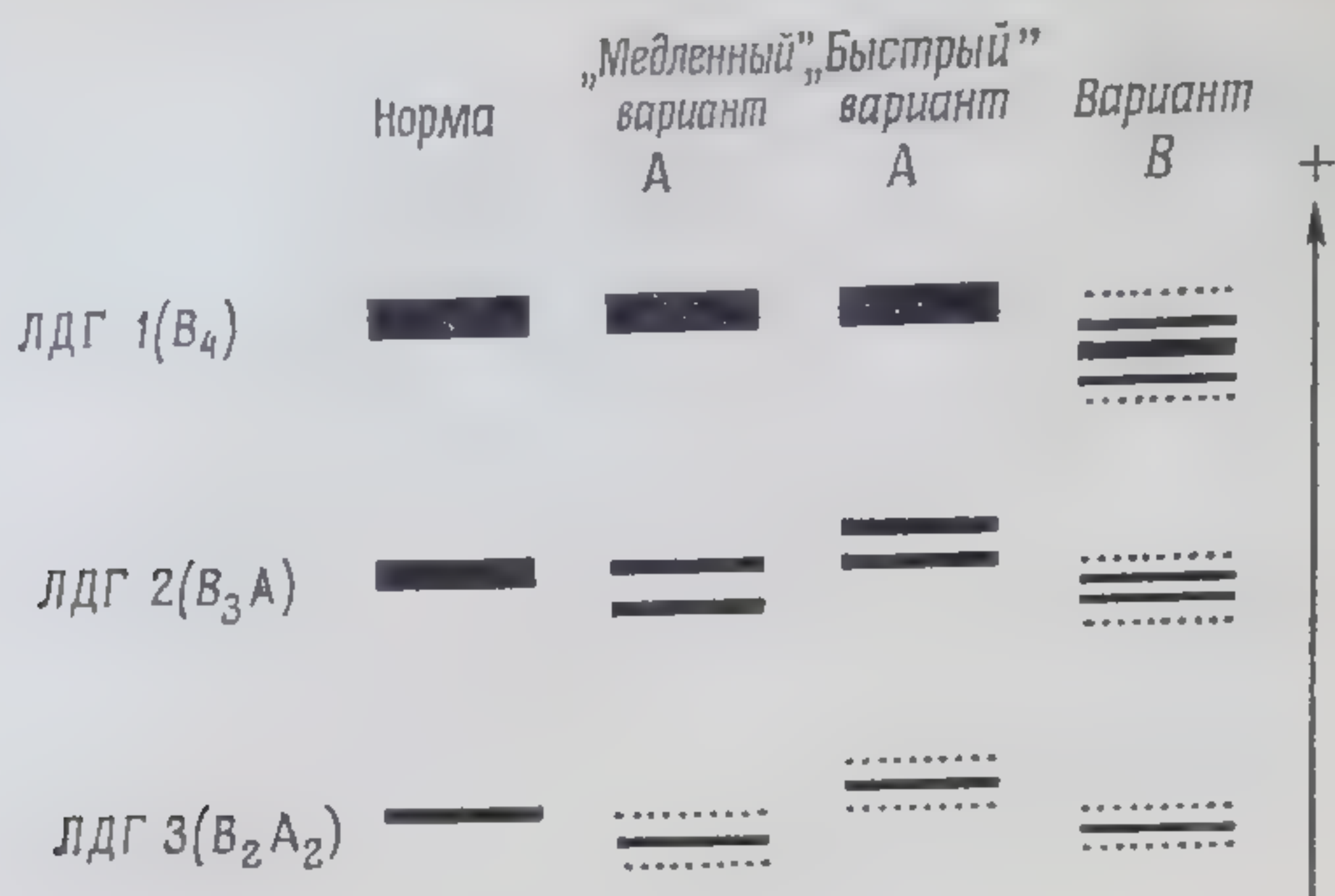
Предполагаемый состав субъединиц изоферментов ЛДГ в норме у индивидуумов, гетерозиготных по мутантному аллелю локуса *A* или *B*

Изофермент	Нормальный состав	Состав 15 возможных изоферментов у гетерозигот по мутантному аллелю локуса <i>A</i>	Состав 15 возможных изоферментов у гетерозигот по мутантному аллелю локуса <i>B</i>
ЛДГ 1	B_4	B_4	B_4 B_3B^* $B_2B_2^*$ BB_3^* B_4^*
ЛДГ 2	B_3A	B_3A B_3A^*	B_3A B_2B^*A BB_2^*A B_3^*A
ЛДГ 3	B_2A_2	B_2A_2 B_2AA^* $B_2A_2^*$	B_2A_2 BB^*A_2 $B_2^*A_2$
ЛДГ 4	BA_3	BA_3 BA_2A^* BAA_2^* BA_3^*	BA_3 B^*A_3
ЛДГ 5	A_4	A_4 A_3A^* $A_2A_2^*$ AA_3^* A_4^*	A_4

* Вариантные субъединицы.

существующих в норме, т. е. с относительной активностью двух локусов (*A* и *B*).

В самом деле найдено значительное число генетически определяемых вариантов лактатдегидрогеназы [70, 128, 352, 459, 651]. Все они сравнительно редки и были обнаружены в различных популяциях главным образом путем обычного электрофоретического исследования. Ни один из известных вариантов, по-видимому, не связан с какой-либо определенной клинической аномалией. В каждом случае наблюдается сложная, но совершенно определенная картина электрофоретического разделения. Обследование семей показало, что индивидуумы с аномальным набором изоферментов



Ф и г. 22. Схема электрофоретического разделения вариантных лактатдегидрогеназ эритроцитов.

Два из этих вариантов обнаружены у индивидуумов, гетерозиготных по разным аллелям локуса, определяющего субъединицу А, а третий вариант — у индивидуума, гетерозиготного по локусу, определяющему субъединицу В.

должны быть гетерозиготны по редкому мутантному аутосомному гену. Поскольку такие мутации очень редки, в изученных до сих пор популяциях гомозигот по этому гену не обнаружено.

На основании данных электрофоретического разделения удается легко классифицировать различные гетерозиготные типы в зависимости от того, является ли редкий мутантный аллель аллелем локуса А или В и, следовательно, определяет ли он вариантную форму полипептида А или В. Для примера на фиг. 22 приведена картина электрофоретического разделения изоферментов из лизатов эритроцитов различных типов гетерозигот. В норме в эритроцитах преобладают три изофермента — ЛДГ 1, ЛДГ 2 и ЛДГ 3. По характеру разделения один из вариантных типов точно соответствует гетерозиготе по мутантному аллелю локуса В, а два других типа — гетерозиготам по мутантному аллелю локуса А. Аналогичные мутации обнаружены также у других организмов (например, у *Peromyscus* [573]). В описанном случае была возможность исследовать также гомозиготы по мутантному аллелю; оказалось, что результаты, полученные для разных тканей, полностью соответствуют рассмотренной гипотезе.

Кроме локусов, кодирующих субъединицы А и В лактатдегидрогеназы, существует, по-видимому, третий локус, определяющий еще одну субъединицу [56, 706]. Наличие этой так называемой С-субъединицы приводит к появлению особого типа тетрамерного изофермента (соответствующую ему полосу называют Х-полосой), характерного для сперматозоидов. Этот изофермент был обнаружен у человека и у животных, но наследуемые варианты найдены пока только у голубей [58]. Очевидно, С-субъединица образуется

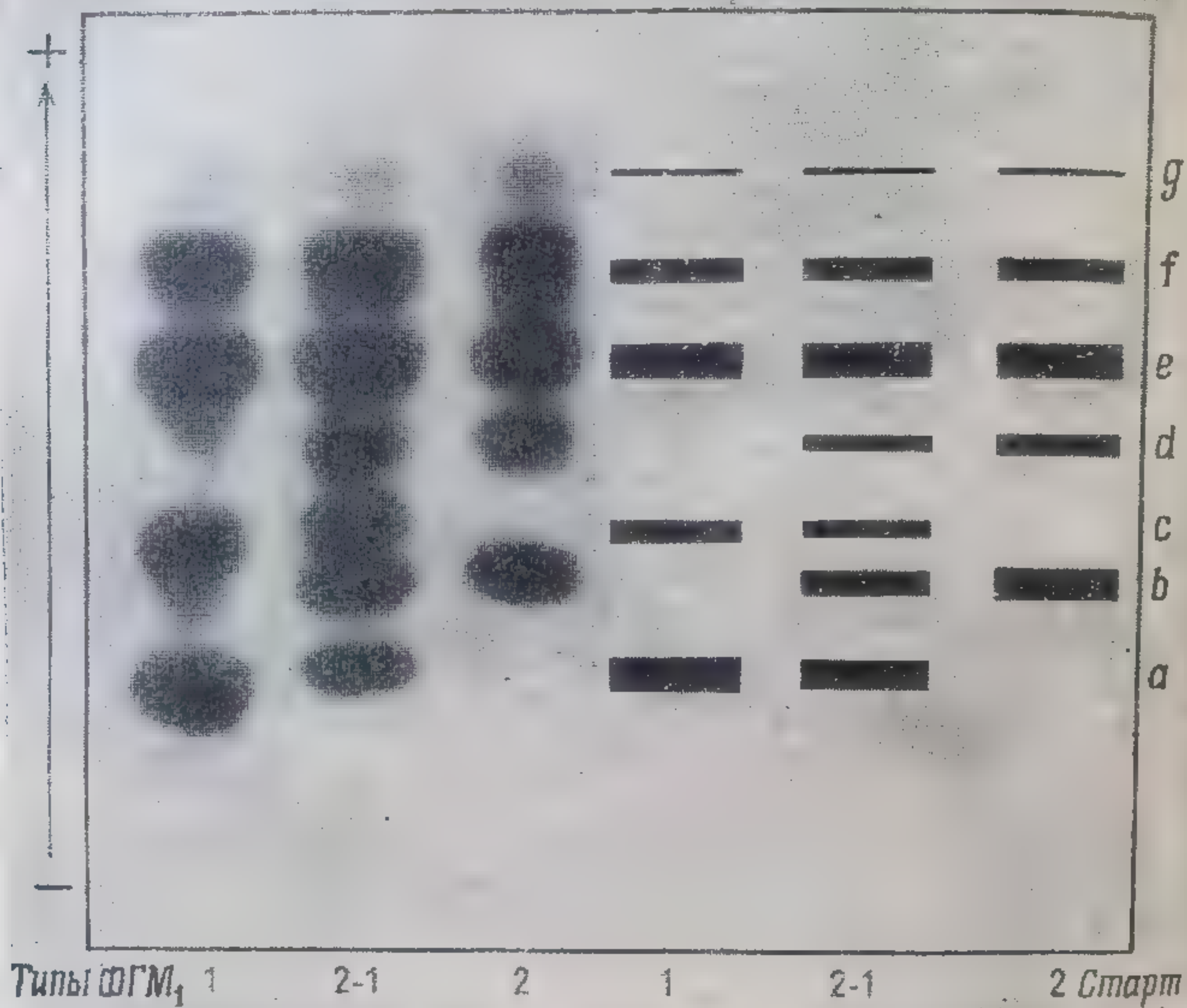
только в сперматоцитах первого порядка и существует там лишь очень недолгое время. Хотя тетрамеры, содержащие субъединицы А, В и С, можно получить *in vitro* (в экспериментах по диссоциации и рекомбинации), обнаружить их *in vivo* не удастся. По-видимому, субъединицы А и В отсутствуют в сперматоцитах первого порядка, в то время как там образуются субъединицы С.

IV. ФОСФОГЛЮКОМУТАЗА

Фосфоглюкомутаза — фосфотрансферазный фермент (α -D-глюкозо-1,6-дифосфат : α -D-глюкозо-1-фосфат — фосфотрансфераза), катализирующий взаимопревращения глюкозо-1-фосфата и глюкозо-6-фосфата. Он играет важную роль в углеводном обмене и обнаружен в большинстве тканей. Электрофоретические исследования показали, что этот фермент существует во множественных молекулярных формах; установлено, что в определении их структуры участвуют по крайней мере три генных локуса. Однако в отличие от лактатдегидрогеназы полипептидные продукты различных генов фосфоглюкомутазы, вероятно, не объединяются в одном изоферменте.

Впервые сложность спектра изоферментов фосфоглюкомутазы была выявлена при изучении эритроцитов разных людей [601]. При электрофорезе лизатов эритроцитов в крахмальном геле с последующим окрашиванием, позволяющим обнаруживать фосфоглюкомутазную активность, было получено несколько зон активности, причем обнаружены значительные и четкие индивидуальные различия. Три обычных фенотипа (фиг. 23) обозначают ФГМ₁ 1, ФГМ₁ 2-1 и ФГМ₁ 2. У ФГМ₁ 1 и ФГМ₁ 2-1 присутствуют изоферменты а и с, отсутствующие у ФГМ₁ 2; в то же время у ФГМ₁ 2 и ФГМ₁ 2-1 имеются изоферменты b и d, отсутствующие у ФГМ₁ 1. Изоферменты e, f и g характерны для всех трех фенотипов. В Англии 58% населения относится к типу ФГМ₁ 1, около 36% — к типу ФГМ₁ 2-1 и около 6% — к типу ФГМ₁ 2. Эти три обычных фенотипа обнаруживаются также во многих других популяциях, так что такой полиморфизм, очевидно, — явление широко распространенное.

Обследование огромного числа разных семей (табл. 4) показало, что характер расщепления в данном случае соответствует законам Менделя (если принять, что полиморфизм определяется двумя обычными аутосомными аллелями: PGM_1^1 и PGM_1^2). Фенотипы ФГМ₁ 1 и ФГМ₁ 2 соответствуют гомозиготным генотипам $PGM_1^1PGM_1^1$ и $PGM_1^2PGM_1^2$, а фенотип ФГМ₁ 2-1 — гетерозиготному генотипу $PGM_1^1PGM_1^2$. Таким образом, изоферменты а и с, очевидно, определяются одним аллелем (PGM_1^1), а изоферменты b и d — другим (PGM_1^2). У гетерозигот, когда имеются оба аллеля, присутствуют все 4 изофермента; однако в этом случае «гибриды», по-видимому, не образуются.



Ф и г. 23. Электрофоретическое разделение изоферментов фосфоглюкомутазы эритроцитов трех обычных типов PGM_1 (PGM_1 1, PGM_1 2-1 и PGM_1 2). Справа — схема. Слева — электрофореграмма (электрофорез в крахмальном геле, pH 7.4) [601].

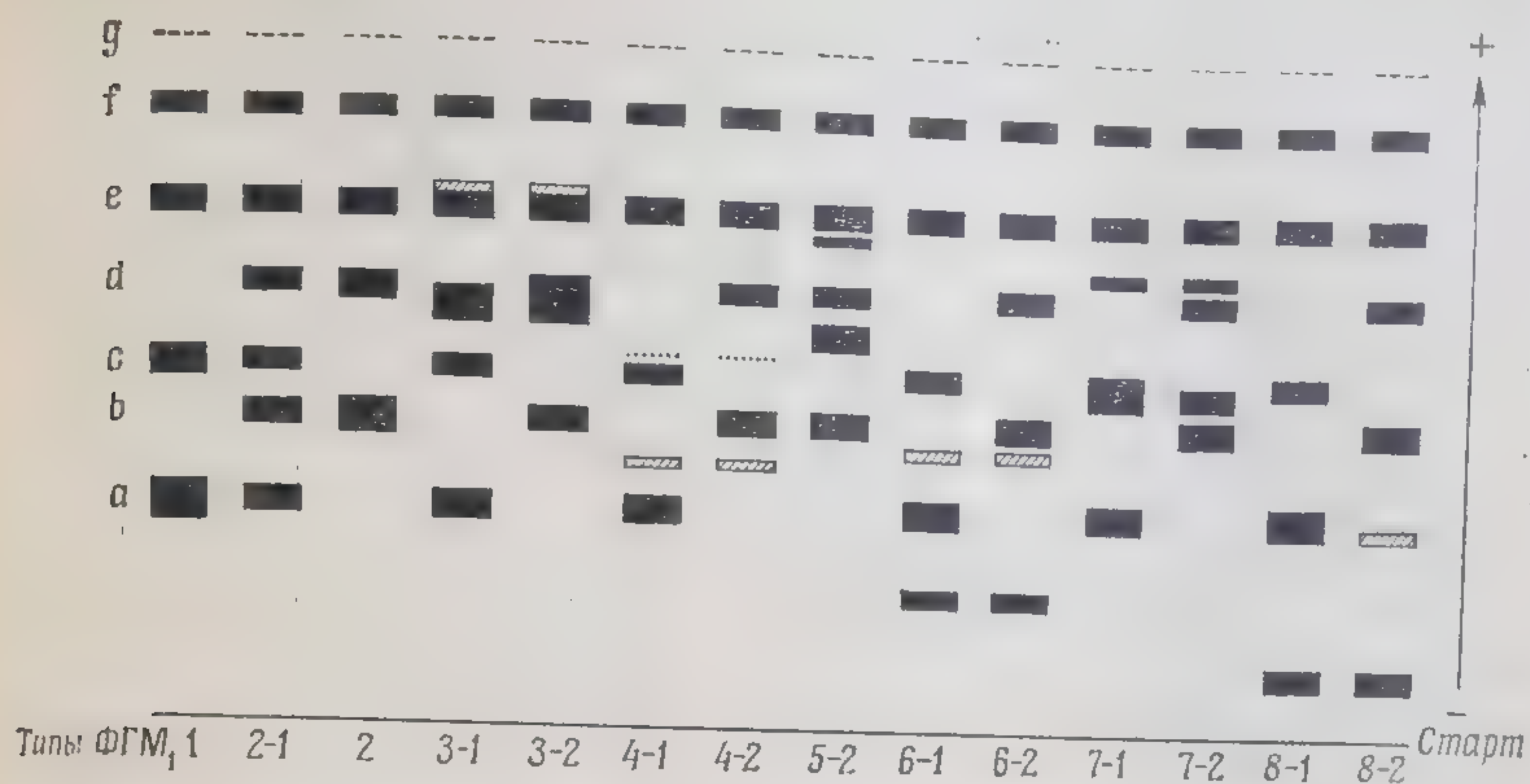
После того как были открыты обычные типы фосфоглюкомутазы, были исследованы пробы крови нескольких тысяч людей, и при этом встретились другие, очень редкие типы распределения изоферментов, характерные для отдельных индивидуумов [264]. Анализ родословных показал, что многие из этих случаев могут быть обусловлены гетерозиготными комбинациями PGM_1^1 или PGM_1^2 с одним из серии редких аллелей того же локуса. На фиг. 24 представлено несколько примеров подобного распределения изоферментов. В каждом случае присутствуют два необычных изофермента, определяемые редким аллелем, а также изоферменты а и с (определяемые аллелем PGM_1^1) или изоферменты b и d (определяемые аллелем PGM_1^2).

Поскольку обычные редкие аллели, о которых шла речь выше, очевидно, не имеют отношения к изоферментам e, f и g, можно сделать вывод, что они определяются другим геном, PGM_2 . Прямым подтверждением [263, 264] этого предположения послужило открытие некоторых редких вариантных типов изоферментов e, f

Ф и г. 24. Изоферменты

и g, существующих в природе. На фиг. 24 представлено несколько примеров подобного распределения этих вариантов PGM_2 . Здесь они присутствуют только совместно с изоферментами a и c (определяемыми аллелем PGM_1^1) или b и d (определяемыми аллелем PGM_1^2).

Распределение по ма	
Тип брака	Число б
1x1	
1x2-1	
1x2	19
2-1x2-1	20
2-1x2	3
2x2	7
Всего	59

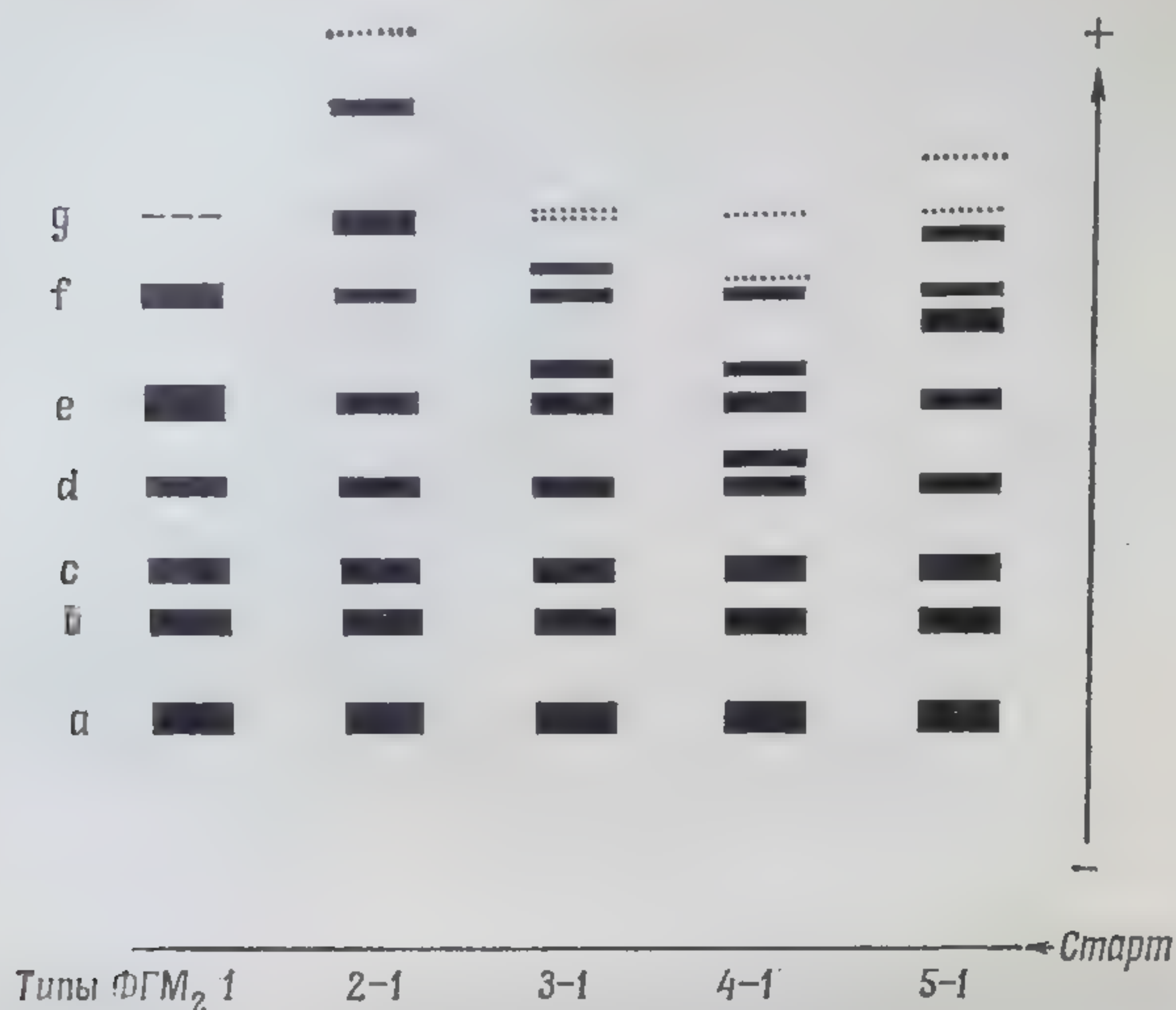


Ф и г. 24. Изоферменты фосфоглюкомутазы эритроцитов (14 различных типов ФГМ_1) [264].

и g, существующих независимо от вариантов, определяемых локусом PGM_1 . На фиг. 25 представлены различные примеры распределения этих вариантных изоферментов, определяемых геном PGM_2 . Здесь они присутствуют вместе с изоферментами a, b, c и d, характерными для фенотипа ФГМ_1 2-1, но они могут встречаться и только совместно с изоферментами a и c, характерными для фенотипа ФГМ_1 1, или только с изоферментами b и d, характерными для фенотипа ФГМ_1 2.

ТАБЛИЦА 4
Распределение типов фосфоглюкомутазы (PGM_1)
по материалам обследования 537 семей [228]

Тип брака	Число браков	Дети			Всего
		1	2-1	2	
1×1	199	392	—	—	392
1×2-1	203	207	215	—	422
1×2	34	—	71	—	71
2-1×2-1	77	35	81	41	157
2-1×2	21	—	24	31	55
2×2	3	—	—	13	13
Всего	537	634	391	85	1110

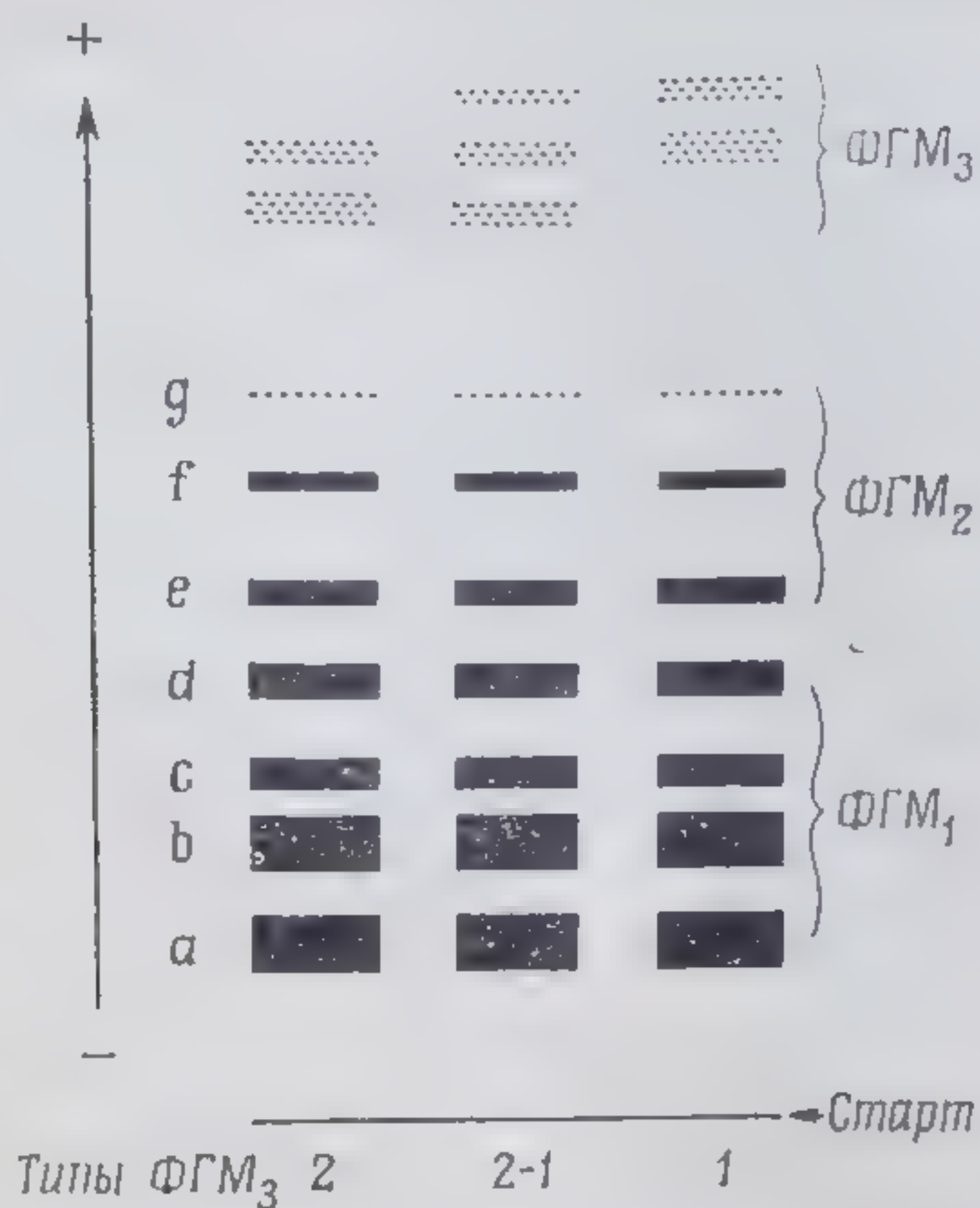


Ф и г. 25. Изоферменты фосфоглюкомутазы эритроцитов (5 различных типов ФГМ₂).

Показанные изоферменты ФГМ₁ во всех случаях относятся к типу ФГМ₁ 2-1 [264, 485].

Исследование генеалогий показало, что различные вариантные типы распределения изоферментов *e*, *f* и *g* встречаются у индивидуумов, гетерозиготных по одному из редких аллелей локуса *PGM*₂. Обычный аллель этого локуса, по которому большинство людей гомозиготно, очевидно определяет сами изоферменты *e*, *f* и *g*, а различные мутантные аллели вызывают появление вариантных форм этих изоферментов, обладающих вполне определенным образом измененной электрофоретической подвижностью. Характер распределения изоферментов, отмечаемый у различных гетерозигот, зависит от того, что в каждом случае речь идет о смеси изоферментов, определяемых двумя имеющимися в наличии аллелями. В некоторых случаях (например, при фенотипе ФГМ₂ 3-1) изоферменты, определяемые мутантным аллелем, легко отделяются на электрофореграммах от изоферментов *e*, *f* и *g*, определяемых обычным аллелем (*PGM*₂¹). Однако в других случаях эти две группы изоферментов могут до некоторой степени перекрываться. Например, при фенотипе ФГМ₂ 2-1 наиболее медленный изофермент вариантной группы имеет такую же электрофоретическую подвижность, что и изофермент *g*, наиболее быстрый из трех изоферментов, определяемых геном *PGM*₂¹.

Впервые изоферменты фосфоглюкомутазы идентифицированы в эритроцитах. Позже было обнаружено, что характерные наборы



Ф и г. 26. Изоферменты ФГМ_3 трех типов в экстрактах плаценты (ФГМ_3 1, ФГМ_3 2-1, ФГМ_3 2) [265].

Показанные изоферменты ФГМ_1 во всех случаях относятся к типу ФГМ_1 2-1, а изоферменты ФГМ_2 — к типу ФГМ_2 1.

изоферментов фосфоглюкомутазы имеются также в печени, почках, мышцах, мозге и плаценте. Изоферменты фосфоглюкомутазы можно также выделить из фибробластов кожи, выращенных в культуре, причем клетки в этих культурах длительное время сохраняют характерный исходный фенотип. В большинстве этих органов общая фосфоглюкомутазная активность значительно выше, чем в эритроцитах. Благодаря этому удалось выделить [265] набор изоферментов, определяемых третьим геном, PGM_3 . Вклад этих добавочных изоферментов в общую фосфоглюкомутазную активность обычно незначителен. Поэтому их удается исследовать только в тех случаях, когда общая активность относительно высока. Оказалось, что очень удобным источником материала для этих целей служит плацента.

Изоферменты, определяемые геном PGM_3 , быстрее мигрируют к аноду, чем другие изоферменты. На фиг. 26 представлена типичная картина электрофоретического разделения. Известно три различных фенотипа: ФГМ_3 1, ФГМ_3 2-1 и ФГМ_3 2. Как показывает генетический анализ, они определяются двумя обычными аллелями, PGM_3^1 и PGM_3^2 , причем фенотип ФГМ_3 2-1 соответствует гетерозиготному состоянию. Эти типы изоферментов встречаются независимо от изоферментов, определяемых аллелями других локусов.

Итак, имеются данные о существовании трех различных локусов, определяющих различные наборы изоферментов фосфоглюкомутазы. На фиг. 27 схематически показаны наборы изоферментов, определяемых различными аллелями этих трех локусов. У индивидуумов, гомозиготных по всем трем локусам, обнаруживается не менее 8 изоферментов фосфоглюкомутазы. У индивидуумов, гетерозиготных хотя бы по одному локусу, набор изоферментов более

ТАБЛИЦА 5

Установленная частота аллелей фосфоглюкомутазы
в различных этнических группах (анализ отдельных выборок)

Локус	Аллель	Европейцы		Негры		Индийцы	
		число обследо- ванных	частота аллеля	число обследо- ванных	частота аллеля	число обследо- ванных	частота аллеля
PGM_1	PGM_1^1	4583	0,765	1863	0,785	732	0,700
	PGM_1^2	4583	0,234	1863	0,214	732	0,294
	другие в сумме	4583	0,0009	1863	0,0006	732	0,006
PGM_2	PGM_2^1	4583	0,9996	1863	0,995	732	0,999
	PGM_2^2	4583	—	1863	0,004	732	—
	другие ■ сумме	4583	0,0004	1863	0,004	732	0,001
PGM_3	PGM_3^1	1274	0,737	895	0,370	—	—
	PGM_3^2	1274	0,263	895	0,630	—	—

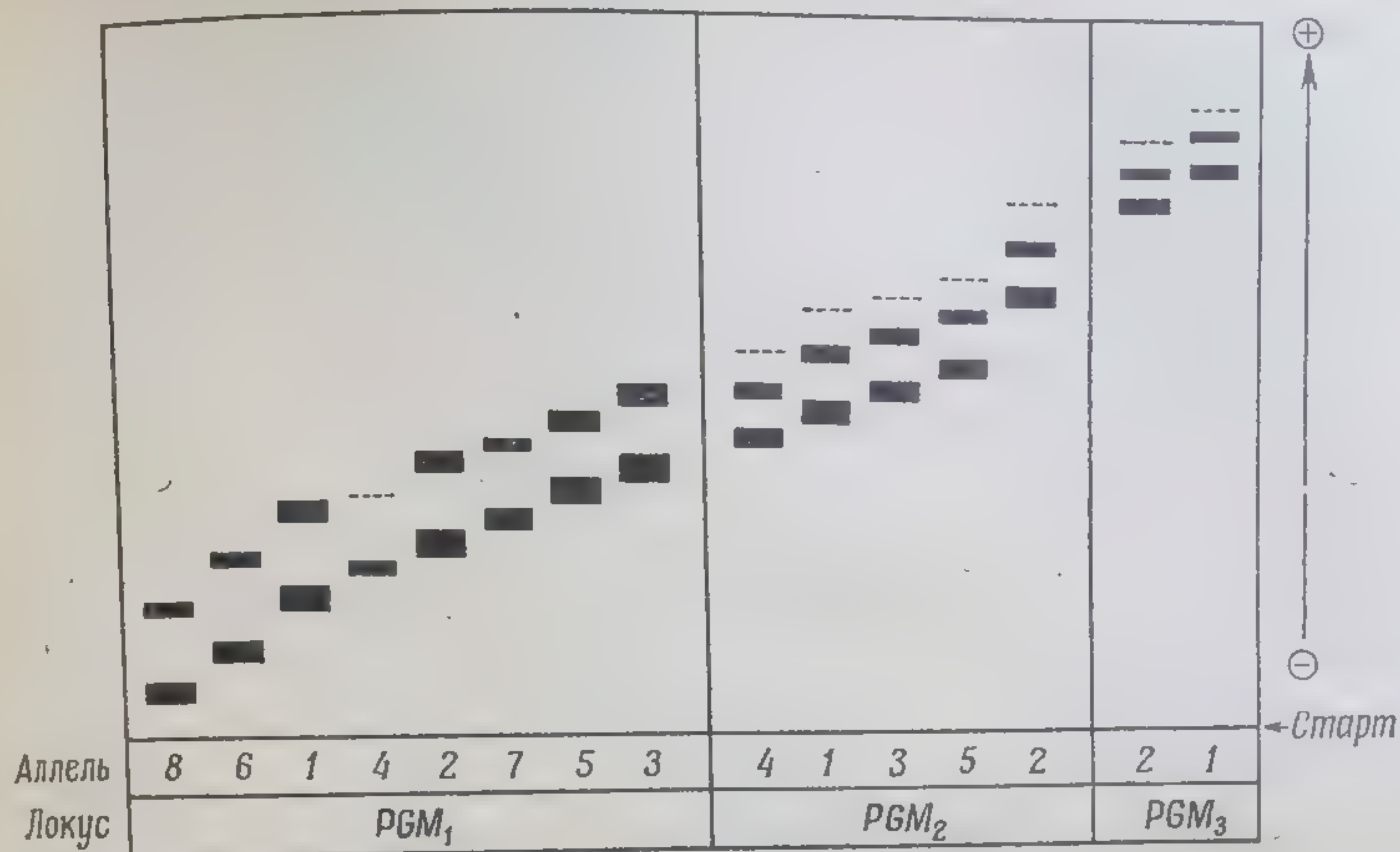
сложен, и очевидно, что у разных людей возможно множество комбинаций изоферментов фосфоглюкомутазы. Их относительная частота должна, конечно, зависеть от частоты различных аллелей в данной популяции (табл. 5), и большинство возможных аллельных комбинаций встречается очень редко. Тем не менее среди населения Англии, например, можно выделить по крайней мере 8 типов, каждый из которых встречается в популяции в целом с довольно значительной частотой (свыше 2%) (табл. 6). Таким образом, налицо высокая степень гетерогенности.

В настоящее время мало что известно о природе различий между изоферментными продуктами трех локусов. Исследования ме-

ТАБЛИЦА 6

Встречаемость индивидуумов (в %) с различными комбинациями
фенотипов FGM_1 и FGM_3 среди населения Англии

		Фенотип FGM_1			Всего
		$FGM_1 1$	$FGM_1 2-1$	$FGM_1 2$	
Фенотип FGM_3	$FGM_3 1$	31,8	19,4	3,0	54,2
	$FGM_3 2-1$	22,7	13,9	2,1	38,7
	$FGM_3 2$	4,0	2,5	0,4	6,9
Всего		58,5	35,8	5,5	99,8



Ф и г. 27. Изоферменты фосфоглюкомутазы, определяемые 8 аллелями локуса PGM_1 , 5 аллелями локуса PGM_2 и 2 аллелями локуса PGM_3 [266].

В серии PGM_1 постоянно присутствует по крайней мере один дополнительный сравнительно быстро движущийся изофермент, обнаруживаемый в сравнительно небольшом количестве и обычно маскируемый другими изоферментами, присутствующими у индивидуумов с различными генотипами.

тодами гель-фильтрации [435] и ультрацентрифугирования [542] показали, что изоферменты $ФГМ_2$ имеют молекулы несколько большего размера по сравнению с изоферментами $ФГМ_1$ и $ФГМ_3$, причем все изоферменты, определяемые каким-либо одним генетическим локусом (например, изоферменты а, b, с и d — для локуса PGM_1), оказались одинаковыми по размерам своих молекул. Далее, термостабильность изоферментов $ФГМ_2$ значительно выше, чем изоферментов $ФГМ_1$ и $ФГМ_3$. Что касается каталитической активности этих изоферментов, то имеющиеся данные позволяют сказать лишь то, что все они обладают типичной фосфоглюкомутазной активностью. Возможно, дальнейшие исследования позволят выявить значительные кинетические или иные различия, связанные с молекулярными свойствами изоферментов фосфоглюкомутазы.

В чем кроется причина различий между изоферментами, определяемыми одним аллелем (например, между изоферментами а и с, определяемыми геном PGM_1 , изоферментами е, f и g, определяемыми PGM_2 и т. д.), также пока не установлено. Сравнение электрофореграмм изоферментов, выделенных из эритроцитов различного «среднего возраста», показывает, что относительное количество различных изоферментов, определяемых одним аллелем, изменяется с возрастом популяции клеток [436]. В общем доля наиболее быстро движущихся к катоду изоферментов в любом

наборе, по-видимому, больше в молодых клеточных популяциях. По-видимому, ближайшие к катоду изоферменты в каждом случае представляют собой первичные молекулярные формы фермента, синтезируемые в клетке, тогда как изоферменты, располагающиеся ближе к аноду, возможно, возникают из этих первичных форм путем вторичных модификаций структуры белковой молекулы.

V. ГЕНЫ И ИЗОФЕРМЕНТЫ

На примере лактатдегидрогеназы и фосфоглюкомутазы мы видели, что ■ клетках одного индивидуума может присутствовать значительное число различных и притом поддающихся разделению белков, обладающих одинаковой или очень близкой ферментативной активностью. Такие множественные молекулярные формы фермента, присутствующие в одном организме, обычно называют *изоферментами*. Термин *изоферменты* впервые был предложен Маркертом и Мёллером в 1959 году [418] и ныне широко принят в биохимической литературе. Этот термин очень удобен, поскольку он не подразумевает никакой конкретной структурной связи между различными белками, обладающими сходной ферментативной активностью. В самом деле, чем больше мы узнаем подобных случаев, тем яснее становится, что характер структурных взаимоотношений между молекулами различных изоферментов может быть самым разным.

За последние годы было обнаружено множество изоферментных систем. Это стало возможным в основном благодаря широкому использованию сравнительно простого метода зонального электрофореза в таких поддерживающих средах, как крахмальный гель и полиакриламид, в сочетании с чувствительными методами окрашивания, позволяющими выявлять зоны ферментативной активности в сложных смесях белков. Этот общий метод, разработанный впервые применительно к эстеразам [284] и дегидрогеназам [418], а затем применявшийся для многих других ферментов, оказался очень полезным орудием исследования. Его во многих случаях можно использовать непосредственно для анализа неочищенных гомогенатов свежих тканей, так что удастся свести к минимуму изменения ферментов, неизбежные *in vitro*. Разумеется, этот метод можно применять также на последующих стадиях выделения и очистки изоферментов, так что легко удастся выявить любые изменения, которые при этом могут произойти. Кроме того, при работе этим методом требуются сравнительно небольшие количества материала, что особенно важно при генетических исследованиях, когда приходится изучать изоферменты в одной определенной ткани у многих людей.

Широкое использование этого метода (конечно, в сочетании с различными другими методами) позволило идентифицировать значительное число изоферментных систем у многих организмов

(см., напр
ментов»,
но, что с
ление ши
нной степ
что мног
лекулярн
ных фор
стью, — о
белков.

Причин
молекуляр
чае может
Возможны
форме, мн
ких белко
мые ниже

а. Нал
различаю
белка. Ст
ферментн
разных ло
ных форм
По крайн
известны
разные
и ε).

Во все
аминокис
липептиде
ассоцииру
различаю
ром служ
A₂B, A₂B₂
моглобине
чаях пол
в отдельн
не объед
справедл
и изофер

б. На
ции мож
ленного
туре пол
фермент
висимост
зигот, по
5*

(см., например, обзор «Множественные молекулярные формы ферментов», *Annals New York Acad. Sci.*, 151, 1—689, 1968). Стало ясно, что существование множественных молекулярных форм — явление широко распространенное и, вероятно, характерно в той или иной степени для большинства ферментов. Кроме того, оказалось, что многие неферментные белки также имеют множественные молекулярные формы. По-видимому, множественность молекулярных форм, обладающих одинаковой функциональной активностью, — обычное свойство большинства ферментов и вообще белков.

Причины, лежащие в основе возникновения множественных молекулярных форм, различны, причем в каждом конкретном случае может быть несколько механизмов образования изоферментов. Возможные пути возникновения изоферментов или, в более общей форме, множественных молекулярных форм функционально близких белков удобно разделить на три группы [225], рассматриваемые ниже.

а. Наличие множественных генных локусов, которые кодируют различающиеся в структурном отношении полипептидные цепи белка. Структуру изоферментов или функционально сходных неферментных белков данной группы могут определять несколько разных локусов. Например, в определении различных молекулярных форм лактатдегидрогеназы участвуют три локуса (А, В и С). По крайней мере три различных локуса (PGM_1 , PGM_2 и PGM_3) известны для фосфоглюкомутазы. Не менее 6 локусов кодируют разные полипептидные цепи гемоглобина (α , β , две цепи γ , δ и ϵ).

Во всех подобных случаях каждый ген кодирует определенную аминокислотную последовательность, отличную от остальных полипептидных цепей. В некоторых случаях несколько полипептидов ассоциируют с образованием комплексных изоферментных форм, различающихся набором составляющих их полипептидов. Примером служат 5 обычных изоферментов лактатдегидрогеназы (A_4 , A_3B , A_2B_2 , AB_3 , B_4), а также различные молекулярные формы гемоглобинов: HbA ($\alpha_2\beta_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$) и т. д. Однако в других случаях полипептидные продукты различных локусов могут каждый в отдельности составлять разные компоненты набора изоферментов, не объединяясь друг с другом в одну белковую молекулу (это справедливо, например, для изоферментов фосфоглюкомутазы и изофермента С лактатдегидрогеназы).

б. Наличие множественных аллелей одного локуса. В популяции может существовать множество различных аллелей определенного гена, причем каждый аллель кодирует отличную по структуре полипептидную цепь; в таком случае первичная структура фермента или белка разных индивидуумов будет различной в зависимости от имеющегося аллеля. Можно ожидать, что у гетерозигот, поскольку они несут два разных аллеля, набор изофермен-

тов будет более сложным, чем у гомозигот. В некоторых случаях набор изоферментов у гетерозигот будет представлять собой просто смесь изоферментов, имеющих у соответствующих гомозигот. Однако если ферменты являются мультимерами, то у гетерозигот могут появляться «гибридные» изоферменты, отсутствующие у гомозигот (см. стр. 47).

Несомненно, степень различий в первичных аминокислотных последовательностях полипептидных продуктов разных генов, участвующих в определении набора изоферментов, широко варьирует. Однако слишком большие различия едва ли встречаются часто. В то же время полипептидные продукты различных аллелей одного локуса в большинстве случаев, по-видимому, различаются всего по одной аминокислоте. В общем, если изоферменты данного индивидуума определяются множественными локусами, то они, как правило, различаются гораздо сильнее, чем при множественном аллелизме одного локуса.

Однако главное различие между этими генетическими механизмами возникновения изоферментов состоит в том, что множественный аллелизм определяет различия между отдельными членами популяции по набору изоферментов, тогда как множественные локусы будут, как правило, общими у всех представителей данного вида и, следовательно, будут определять общий тип набора изоферментов в популяции.

в. «Вторичные» модификации структуры белка. Множественные гены и аллели служат генетической основой, определяющей главные характеристики различных молекулярных форм функционально близких ферментов или белков, имеющих у индивидуума данного вида. Однако сложность многих изученных изоферментных систем нельзя объяснить только генетическими причинами. Вероятно, важным фактором являются также вторичные модификации структуры белка, происходящие после завершения синтеза полипептидных цепей в рибосомах на РНК-матрице. Этот фактор имеет достаточно общий характер.

Так, характерные наборы изоферментов, каждый из которых кодируется одним аллелем одного из локусов фосфоглюкомутазы (фиг. 27), вероятно, возникают в результате вторичных модификаций первичной структуры белка. Сходные наборы изоферментов, также, по-видимому, представляющие собой продукты одного единственного аллеля, были обнаружены при исследовании аллельных вариантов некоторых других ферментов, например аденилаткиназы [107], аденозиндезаминазы [265]¹ и пептидазы В [382]; возможно, что в этих случаях происходят вторичные модификации первичных белковых продуктов, дающие множественные формы.

Существование главных изоферментов лактатдегидрогеназы, обнаруживаемых в различных тканях, удается легко объяснить образованием тетрамерных комбинаций полипептидных продуктов

различных аллелей трех генов; однако кроме этих главных форм с помощью электрофореза можно выделить добавочные, минорные компоненты [417]. Эти минорные компоненты, по-видимому, постоянно присутствуют в каждой ткани совместно с главными компонентами, хотя их наборы несколько варьируют в различных тканях. При электрофорезе других ферментных и неферментных белков также в ряде случаев были обнаружены минорные компоненты, связанные с главными. По-видимому, существование таких минорных компонентов — вещь довольно обычная. Они наблюдались для мультимерных ферментов и других белков (например, плацентарной щелочной фосфатазы [529] и фосфогексоизомеразы [138]), а также для мономерных белков, т. е. белков, молекулы которых состоят из 1 полипептидной цепи (например, для миоглобина [155]). Эти минорные компоненты, вероятно, опять-таки образуются за счет вторичных модификаций первичных белковых продуктов.

После завершения первичного синтеза белка его структура может претерпевать разнообразные изменения. Возможно, например, отщепление амидных групп остатков глутамина или аспарагина, окисление сульфгидрильных групп, добавление фосфатных групп и различных углеводных группировок, расщепление полипептидной цепи протеолитическими ферментами с утратой фрагмента аминокислотной последовательности и т. д. Если такие «вторичные» модификации затрагивают лишь некоторые белковые молекулы, или затрагивают все белковые молекулы, но в разной степени, или же, наконец, представляют собой ряд стадий, через которые проходят белковые молекулы, то данный белок должен в каждый момент представлять собой смесь множественных молекулярных форм. Некоторые изоферменты, обнаруживаемые в тех или иных случаях, возможно, часто представляют собой формы, образовавшиеся на последовательных ранних стадиях процесса денатурации и распада ферментного белка *in vivo*.

Возможны и другие причины появления множественных молекулярных форм ферментного или иного белка, если он кодируется одним аллелем. Так, в некоторых случаях может существовать несколько форм, обладающих одинаковой первичной структурой, но различной трехмерной конформацией. Иначе говоря, речь идет о серии относительно стабильных конформационных изомеров [341], различающихся по некоторым свойствам, например по электрофоретической подвижности, что зависит от относительного числа спрятанных в глубине молекулы и остающихся на ее поверхности определенных химических группировок. В других случаях серия молекулярных форм может состоять из мономеров, димеров, тримеров и т. д. единственной субъединицы, которая сама построена из одной или нескольких полипептидных цепей (как это характерно для обычных типов гаптоглобинов Hр2-1 и Hр2-2, см. гл. III). Наконец, если ферментный или другой белок прочно связан во

внутриклеточной среде с какими-либо другими молекулами (большими или малыми), то при электрофорезе экстрактов тканей можно наблюдать картину, напоминающую то, что получается при наличии множественных молекулярных форм.

VI. РАСПОЛОЖЕНИЕ ГЕННЫХ ЛОКУСОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ МНОЖЕСТВЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ БЕЛКА, В ХРОМОСОМАХ

1. Сцепление и рекомбинация

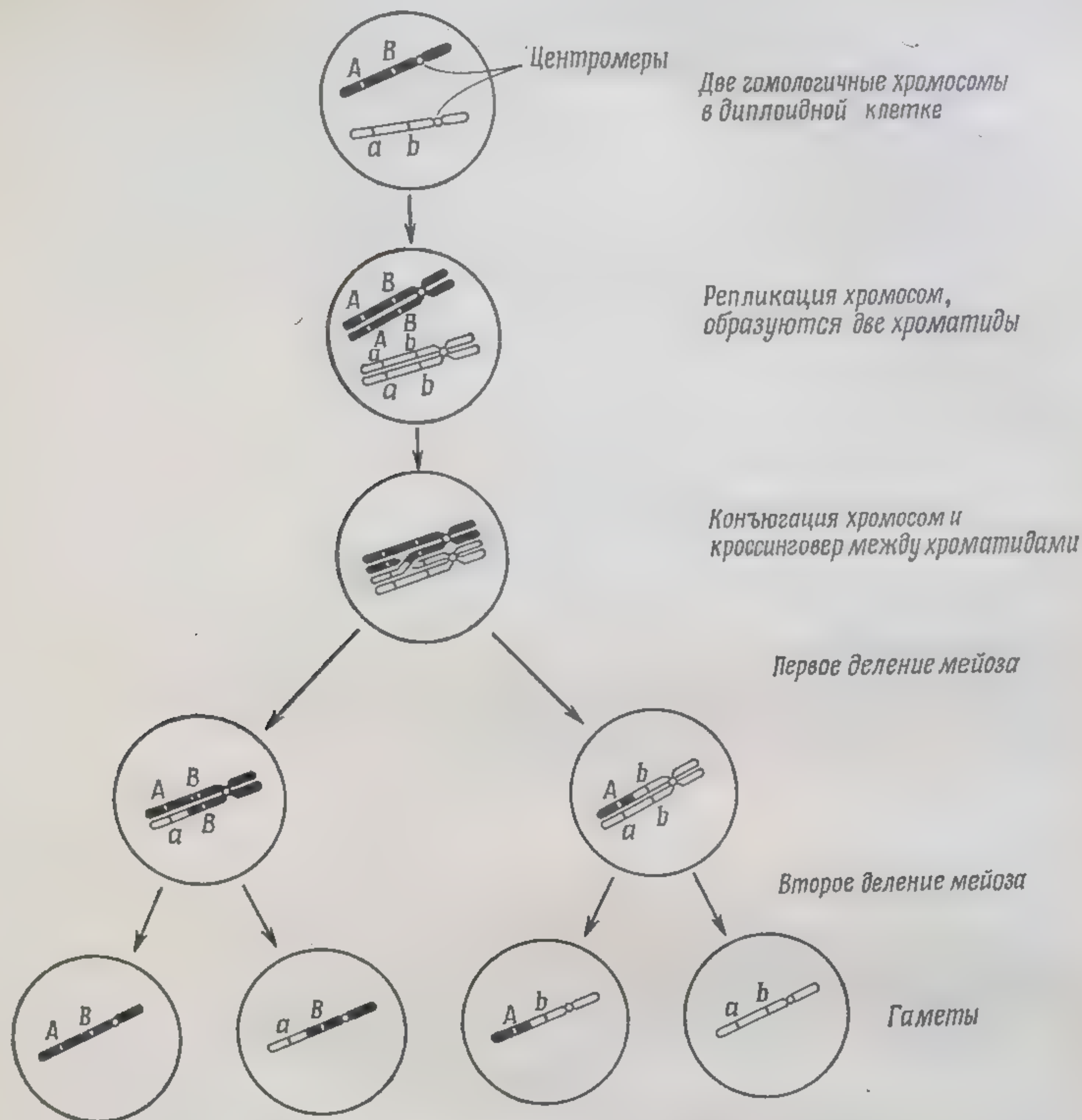
Когда в определении структуры фермента или другого белка участвует несколько генных локусов, возникает вопрос об их относительном расположении в хромосомах.

Рассмотрим случай, когда имеются два локуса, в одном из которых могут присутствовать аллели A или a , а в другом — B или b . Генотип индивидуума, гетерозиготного по обоим локусам, будет $AaBb$. У такого индивидуума может образоваться четыре типа гамет (сперматозоидов или яйцеклеток): AB , Ab , aB и ab . Их относительное число будет зависеть от того, расположены ли локусы в одной или в разных хромосомах, а если в одной, — то от относительного расстояния между ними. Если локусы находятся в разных хромосомах, то эти четыре типа гамет будут появляться с одинаковой частотой. Если же они расположены в одной хромосоме, то расстояние между ними определяет частоту рекомбинации соответствующих генов при кроссинговере, который имеет место в мейозе перед образованием гамет.

При кроссинговере происходит обмен участками между двумя хромосомами (точнее, хроматидами) в тот момент, когда они конъюгируют в мейозе (фиг. 28). Вообще говоря, кроссинговер может происходить в любом месте хромосомы, так что вероятность рекомбинации между двумя данными локусами зависит от расстояния между ними. Например, если у двойных гетерозигот с генотипом $AaBb$ гены A и B расположены в одной хромосоме, а гены a и b — в гомологичной хромосоме, то при единичном кроссинговере между двумя локусами произойдет рекомбинация генов, и в одну из хромосом попадут гены A и b , а в другую — гены a и B . Кроссинговер между двумя близко расположенными в одной хромосоме локусами будет событием относительно редким, а в большинстве образуемых гамет будет присутствовать хромосома с какой-либо из первичных комбинаций генов (AB или ab), и лишь немногие из них будут рекомбинантными. Если же расстояние между локусами больше, то вероятность кроссинговера между ними увеличится и относительное число рекомбинантов соответственно возрастет. Если, наконец, два локуса находятся достаточно далеко друг от друга, так что кроссинговер между ними происходит с большой вероятностью, то результат окажется таким же, как если бы они располагались на разных хромосомах. В среднем



у 50% гамет будет AB , а 50% будут рекомбинантными. Поскольку рекомбинация происходит между генами, расположенными в одной хромосоме, то для того чтобы частота рекомбинации была 50%, необходимо, чтобы гены были сцеплены. Вообще при скрещивании гетерозигот по двум генам ($AaBb$), о

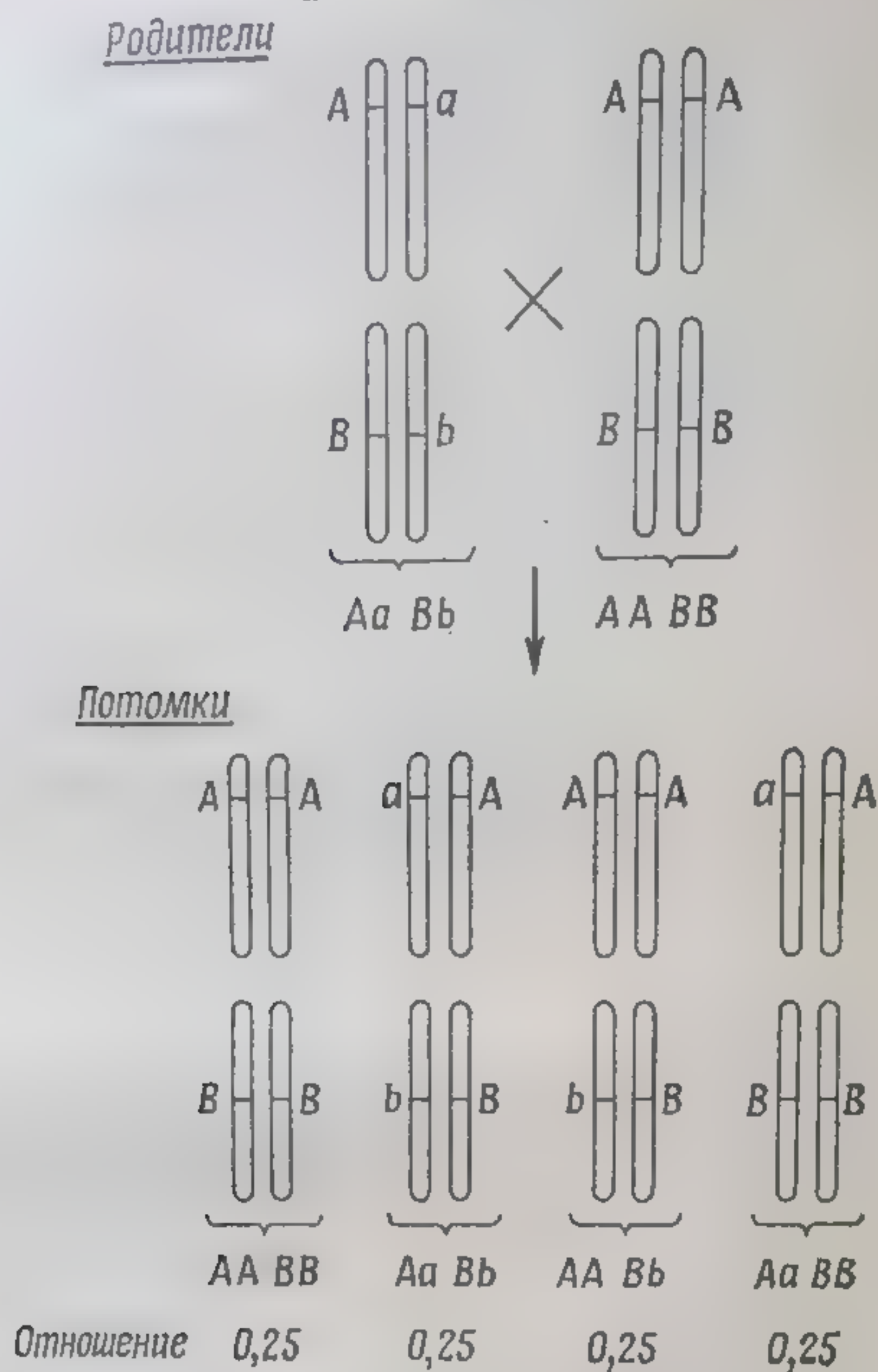


Ф и г. 28. Схема кроссинговера в мейозе.

у 50% гамет будет встречаться первоначальная комбинация генов, а 50% будут рекомбинантными.

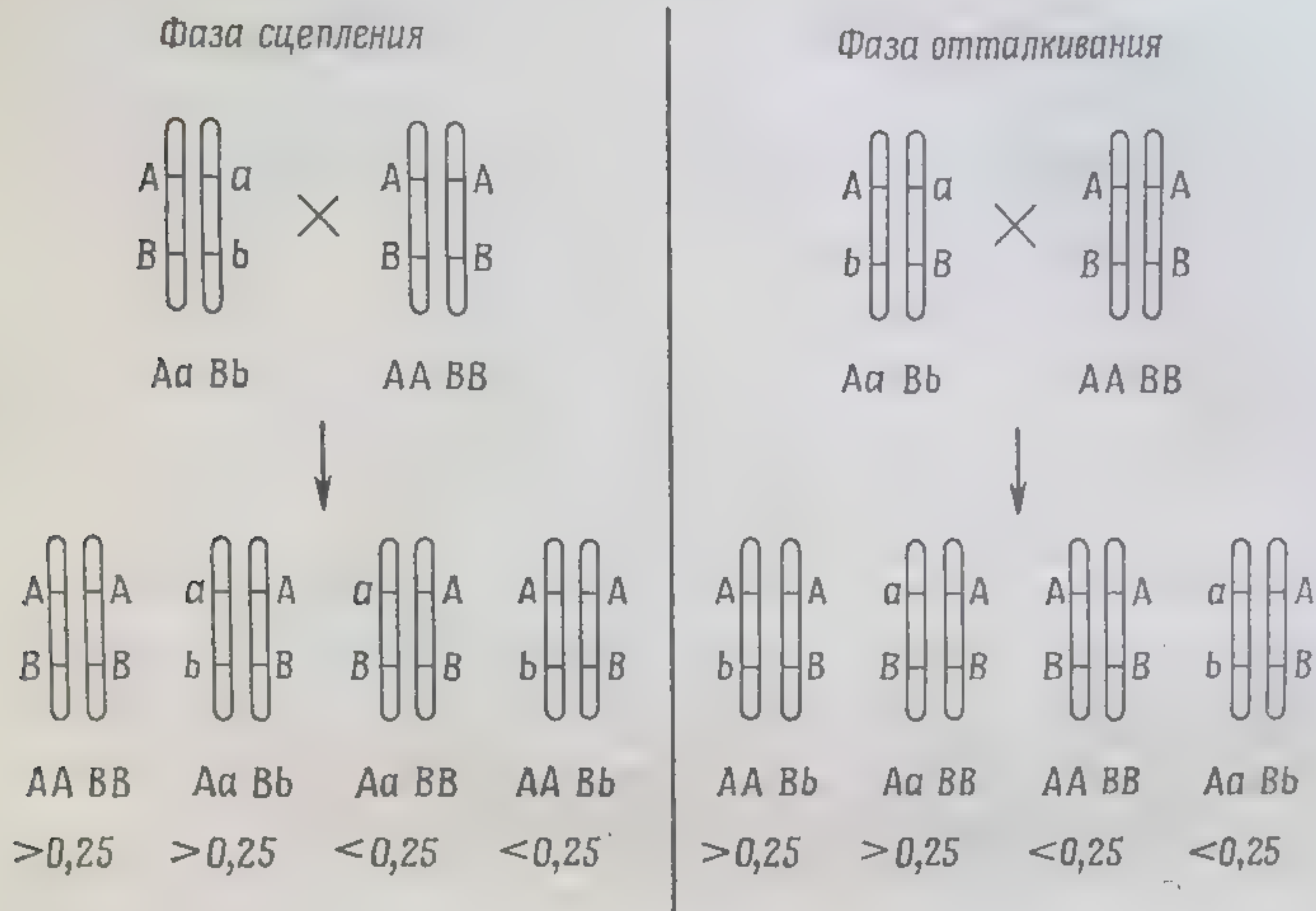
Поскольку рекомбинация для генов, расположенных в разных хромосомах, происходит легко, снижение частоты рекомбинаций между генами двух локусов означает, что эти локусы расположены в одной хромосоме. Говорят, что такие локусы «сцеплены». Для того чтобы обнаружить сцепление, необходимо установить частоту рекомбинаций между генами двух локусов, исследуя расщепление признаков в семьях.

Вообще сцепление любых двух локусов можно оценить, определяя генотипы детей от браков, в которых один из родителей гетерозиготен по обоим локусам. Браки, в которых один из родителей гетерозиготен по обоим локусам ($AaBb$), а другой гомозиготен ($AABB$), особенно информативны. Фиг. 29 иллюстрирует слу-



Ф и г. 29. Схема рекомбинации аллелей различных локусов, расположенных в разных хромосомах.

чай, когда локусы находятся в разных хромосомах. При этом вероятность четырех возможных генотипов ($AABB$, $AaBB$, $AABb$, $AaBb$) у детей одинакова. В среднем половина детей будет иметь один из родительских генотипов, а другая половина — рекомбинантные генотипы. На фиг. 30 представлена ситуация, когда локусы находятся в одной хромосоме. Здесь приходится рассмотреть два случая: первый — когда у гетерозиготного родителя ($AaBb$) в одной хромосоме расположены гены A и B , а в гомологичной хромосоме гены a и b , и второй — когда у гетерозиготного родителя в одной хромосоме расположены гены A и b , а в другой — гены a и B . Говорят, что два гена, например, A и B , находятся в «фазе сцепления», когда они расположены в одной хромосоме, и в «фазе отталкивания» — в двух гомологичных хромосомах. У детей от таких браков опять-таки возможно четыре разных генотипа, но их относительная частота будет различной в зависимости от расстояния, разделяющего локусы. Чем ближе они расположены друг к другу, тем реже кроссинговер и меньше число рекомбинантных генотипов среди потомков.



Ф и г. 30. Схема рекомбинации аллелей различных локусов, сцепленных в одной хромосоме.

При использовании подходящих статистических методов удастся обнаружить сцепление, обследуя два поколения семей типа $AaBb \times AABV$; данные о каждой семье неизбежно ограничены, поскольку если два локуса расположены на одной хромосоме, то неизвестно, находится ли данная пара генов (т. е. A и B) у родителя, гетерозиготного по обоим локусам, в фазе сцепления или в фазе отталкивания. Это затруднение можно обойти, если собрать сведения о дедах и бабках. Полезны также сведения о других родственниках; вообще чем полнее изучена родословная, тем достовернее анализ сцепления.

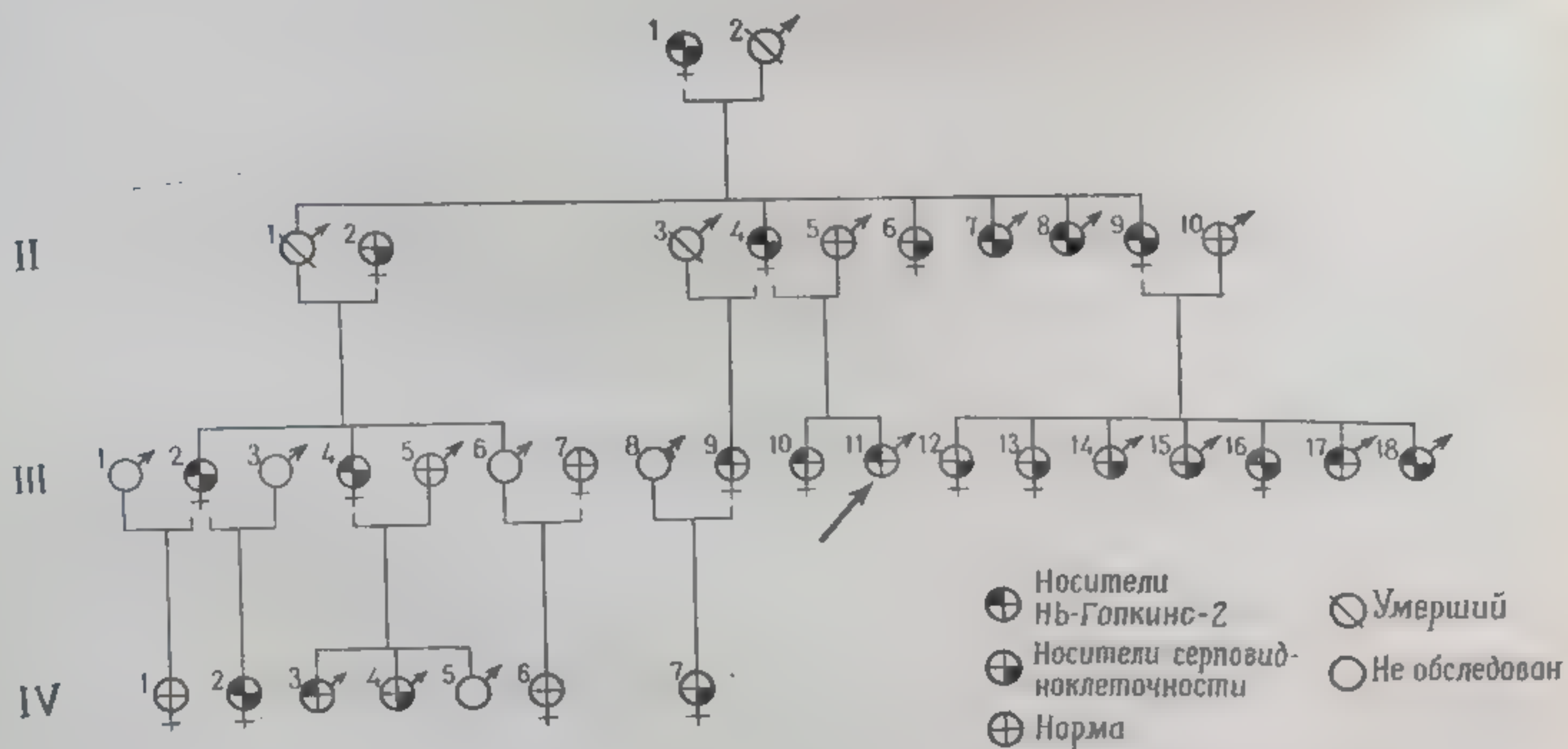
В принципе возможно путем изучения достаточного числа информативных семей и использования подходящих статистических методов решить, сцеплены ли любые два локуса, и если сцеплены, то установить их расположение в хромосомах, определяя частоту кроссинговера между ними [521]. Далее можно составлять карты сцепления с указанием относительного положения различных генных локусов в определенных хромосомах. Оказалось, что такой анализ у людей крайне трудно выполнить, и потому наши сведения о сцеплении генных локусов у человека до сих пор крайне скудны. Очень часто данных, полученных при анализе информативных семей, оказывается достаточно только для того, чтобы представить себе относительную степень сцепления определенной пары локусов. Так, например, обстоит дело с локусами, опреде-

ляющими α -, β - и δ -цепи гемоглобина, а также с тремя локусами фосфоглюкомутазы (PGM_1 , PGM_2 и PGM_3). Однако и эти результаты представляют значительный теоретический интерес, особенно в связи с гипотезами о происхождении таких наборов локусов в процессе эволюции (см. гл. III, разд. II).

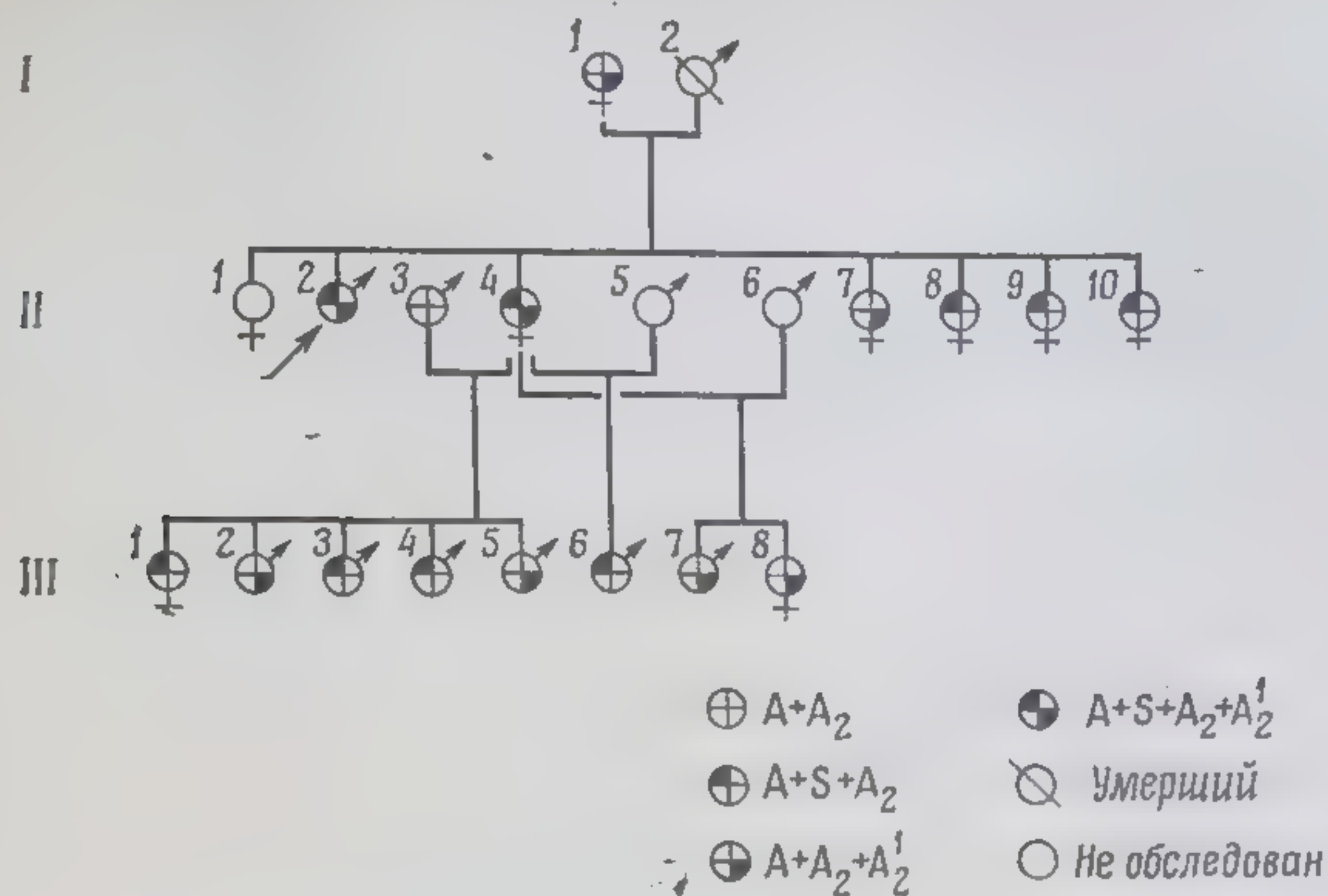
2. Локусы α - и β -цепей гемоглобина

Обнаружено несколько семей, в которых отмечено расщепление по гену, определяющему вариант α -цепи, и гену, определяющему вариант β -цепи. На фиг. 31 представлен пример [73, 300, 584], в котором вариант α -цепи присутствует в необычном гемоглобине Гопкинс-2, а вариант β -цепи — в HbS. Среди потомков имеются гетерозиготы по гену, определяющему гемоглобин Гопкинс-2, а также по гену серповидноклеточности. Расщепление по этим генам свидетельствует о том, что локусы, определяющие α - и β -цепи, не могут быть тесно сцеплены.

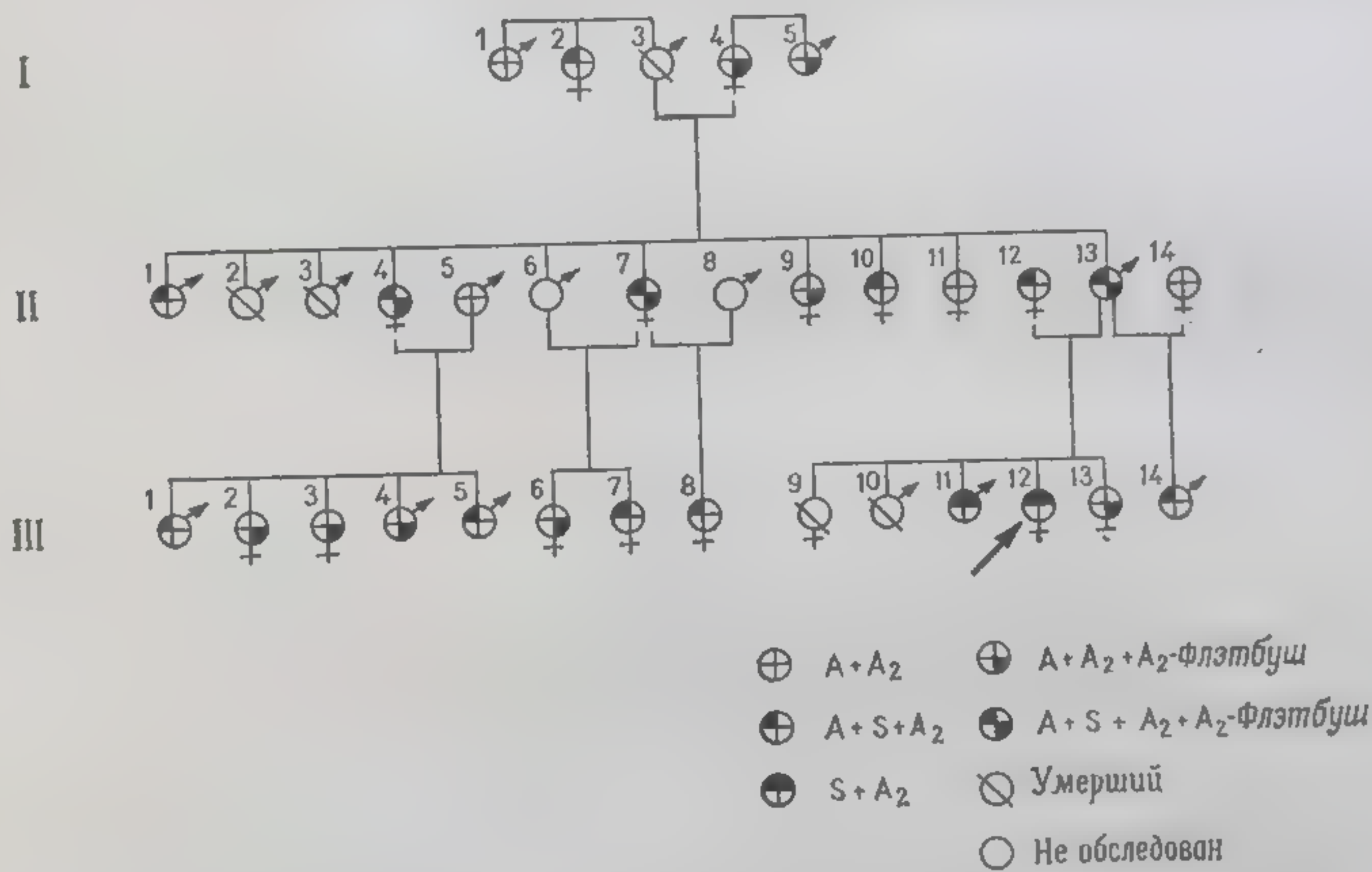
Рассмотрим семерых детей от брака между II₉, гетерозиготной как по « α », так и по « β »-локусу, и II₁₀, гомозиготным по нормальным аллелям этих локусов (фиг. 31). Оказывается, что двое детей гетерозиготны по обоим локусам, так же, как и II₉, а пятеро гетерозиготны по одному из двух локусов, но не по обоим. Если у II₉ гены гемоглобинов Hb-Гопкинс-2 и HbS находятся в одной хромосоме в фазе сцепления, то из семерых детей пятеро должны быть рекомбинантными. Если же у II₉ аномальные гены находятся в фазе отталкивания, то рекомбинантов будет только два. В любом случае должен происходить кроссинговер; следовательно, тесное сцепление локусов маловероятно.



Ф и г. 31. Родословная, иллюстрирующая расщепление по аллелям, определяющим вариант α -цепи гемоглобина Гопкинс-2 и вариант β -цепи HbS [73, 584].

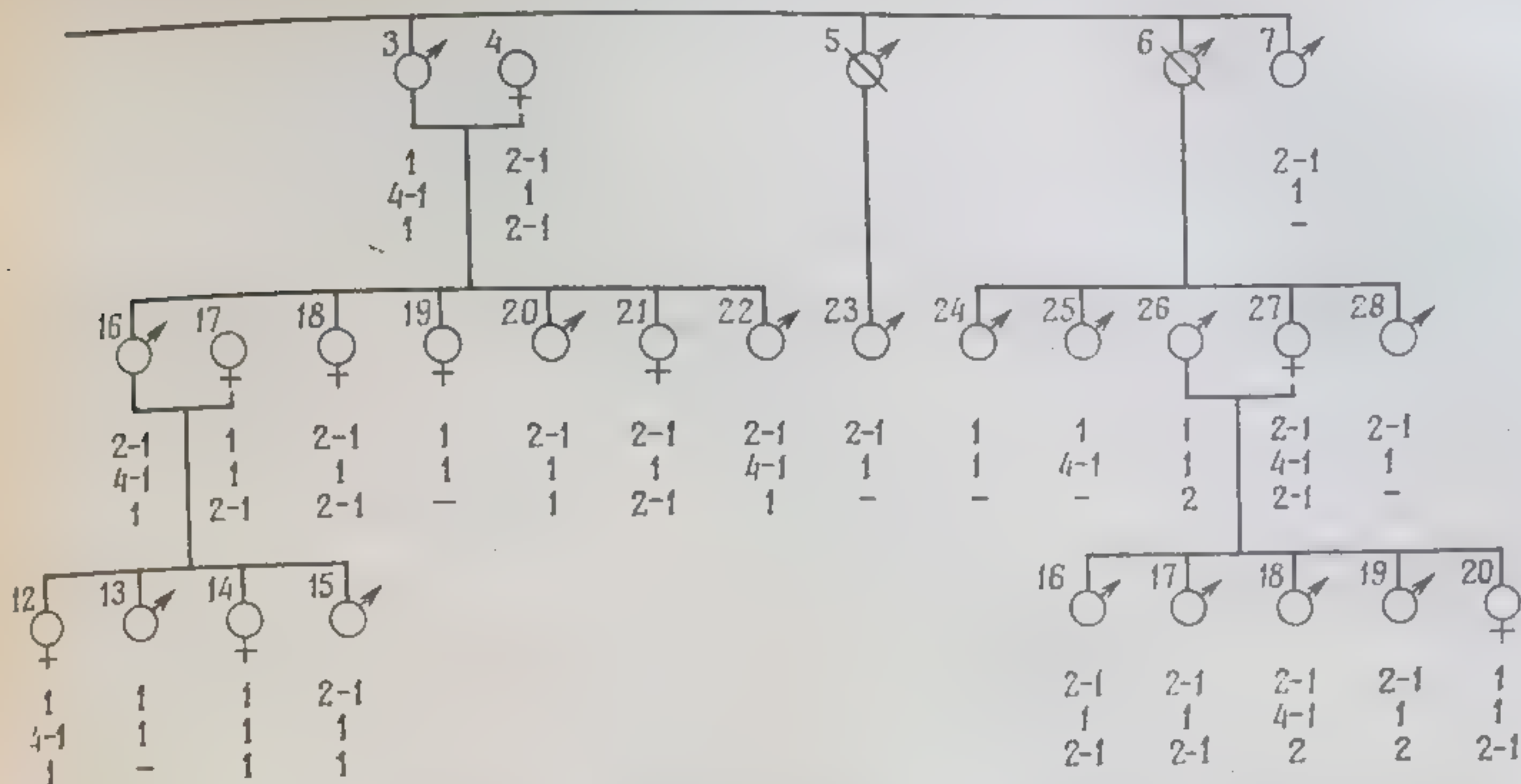


Ф и г. 32. Родословная, иллюстрирующая расщепление по аллелям, определяющим вариант β -цепи HbS и вариант δ -цепи HbA₂ [270].



Ф и г. 33. Родословная, иллюстрирующая расщепление по аллелям, определяющим вариант β -цепи HbS и вариант δ -цепи HbA₂ Флэтбуш [512].

Это заключение подтверждается данными, полученными при обследовании других семей [220, 514]. Детальный анализ всей совокупности наблюдений показывает, что эти локусы расположены или в разных хромосомах, или в одной, но тогда достаточно далеко друг от друга, так что кроссинговер между ними — событие довольно частое.



в которой происходит расщепление по аллелям ■ каждом из трех локусов, и PGM_3 [48].

ния в семьях с вариантами HbF, которые обычно обнаруживаются только у плода или у новорожденных, сопряжено с большими трудностями.

Таким образом, в настоящее время можно считать, что локусы, определяющие β - и δ -цепи гемоглобина, расположены на одной хромосоме близко друг от друга (возможно, даже в непосредственном соседстве), а локус, определяющий α -цепь, находится на другой хромосоме, а если и на той же, то на значительном расстоянии от локусов β и δ .

4. Локусы фосфоглюкомутазы (PGM_1 , PGM_2 и PGM_3)

Данные исследования характера расщепления в семьях, в которых родители гетерозиготны по аллелям двух, а в некоторых случаях и всех трех локусов фосфоглюкомутазы, указывают на отсутствие тесного сцепления.

На фиг. 34 представлена особенно информативная родословная [485]. Путем обычного исследования фермента в эритроцитах было выявлено, что пробанд II₆ гетерозиготен по редкому аллелю локуса PGM_2 (фенотип ФГМ₂ 4-1), так же как гетерозиготен по двум обычным аллелям локуса PGM_1 (фенотип ФГМ₁ 2-1). Фенотип ФГМ₃ обычно невозможно идентифицировать обычными методами исследования эритроцитов, однако при исследовании фибробластов кожи в культуре удалось обнаружить, что этот пробанд гетерозиготен также по локусу PGM_3 (фенотип ФГМ₃ 2-1). Таким образом, он оказался гетерозиготным по всем трем локусам. При аналогичных исследованиях эритроцитов и фибробластов более сорока его родственников было обнаружено характерное расщепление (фиг. 34). Анализ родословной показал, что рекомбинации

между PGM_1 и PGM_2 , PGM_1 и PGM_3 , а также PGM_2 и PGM_3 должны наблюдаться сравнительно часто. Это заключение подтвердилось при более точных расчетах сцепления.

Данные других исследований также свидетельствуют об отсутствии тесного сцепления между PGM_1 и PGM_2 , а также между PGM_1 и PGM_3 [263, 265]. Таким образом, можно заключить, что локусы PGM_1 , PGM_2 и PGM_3 либо находятся в разных хромосомах, либо в одной хромосоме на значительном расстоянии друг от друга (при этом возможно, что в одной хромосоме расположены только два из них).

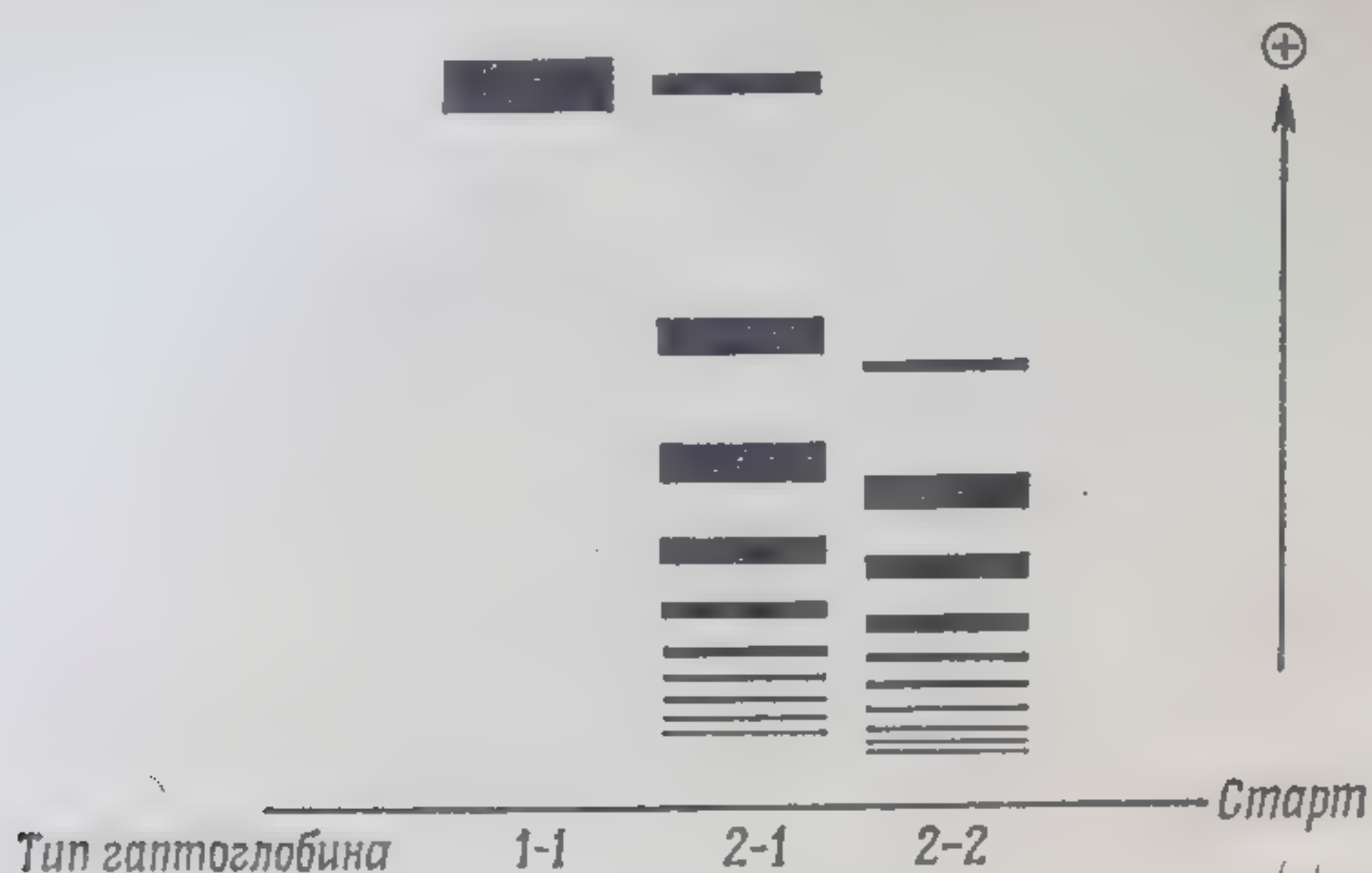
ДУПЛИКАЦИИ И ДЕЛЕЦИИ,
ИХ ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРУ БЕЛКА

I. ВАРИАНТЫ ГАПТОГЛОБИНА

Как мы видели, генная мутация, вызывающая замещение одной аминокислоты в белке, обычно представляет собой изменение одного основания в нуклеотидной последовательности гена. Однако существуют мутации других типов, при которых происходит дупликация (удвоение) или делеция (выпадение) определенных участков последовательности ДНК. Подобно мутациям, связанным с изменением одного нуклеотида, они далее закрепляются в процессе репликации ДНК и вызывают соответствующие изменения структуры полипептида (или полипептидов), кодируемого геном (или генами), затронутым мутацией. Примером белка, структура которого изменена в результате мутации такого типа, может служить одна из обычных вариантных форм гаптоглобина (белок сыворотки).

Сыворотка крови содержит сложную смесь белков, происходящих из различных тканей. Гаптоглобин, составляющий часть фракции α_2 -глобулинов сыворотки, синтезируется в печени. Для фракции α_2 -глобулинов сыворотки, синтезируется в печени. Для него характерна способность прочно и специфично связывать свободный гемоглобин. Связывание гемоглобина гаптоглобином происходит в основном так же, как связывание антигенов антителами, однако комплекс гаптоглобин—гемоглобин остается растворимым и не выпадает в осадок.

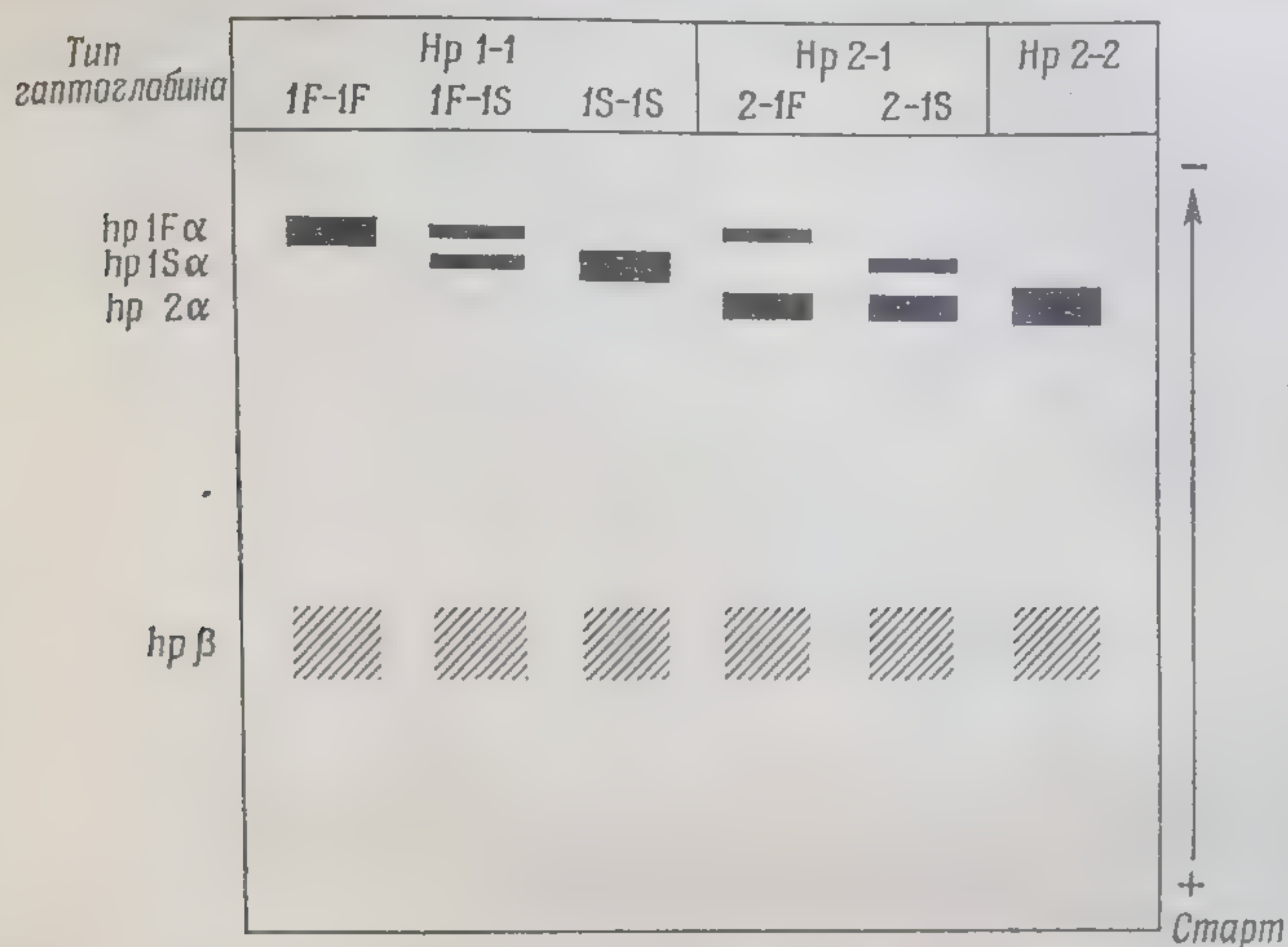
Роль гаптоглобина в организме неизвестна. Количество гемоглобина, необходимое для насыщения всего гаптоглобина, присутствующего в нормальной сыворотке, обычно составляет всего около 50—150 мг на 100 мл [472], а весь избыточный гемоглобин остается в свободном состоянии. Комплекс гаптоглобин—гемоглобин, образующийся при распаде эритроцитов, быстро удаляется из сыворотки и разрушается в тканях, а свободный гемоглобин обычно выделяется с мочой. Возможно, одна из функций гаптоглобина состоит в снижении потери железа организмом до минимума. Кроме того, гаптоглобин, вероятно, имеет значение для образования желчных пигментов: показано, что если в нативном гемоглобине гем устойчив к действию α -метенилоксигеназы печени, превращающей гем в предшественник биливердина, то гем



Ф и г. 35. Три обычных типа гаптоглобина (Hr 1-1, Hr 2-1 и Hr 2-2).
Схема разделения компонентов при электрофорезе в крахмальном геле (рН 8,6).

комплекса гаптоглобин—гемоглобин легко изменяется под действием этого фермента [457].

При исследовании сыворотки различных людей с помощью электрофореза в крахмальном геле [586] удалось выделить несколько различных и весьма характерных типов гаптоглобина (фиг. 35). Наиболее часто встречаются типы Hr 1-1, Hr 2-1, Hr 2-2; они различаются числом белковых компонентов и их электрофоретической подвижностью. Молекула Hr 1-1 состоит из одного-единственного компонента. Компонент с такой же подвижностью присутствует и Hr 2-1, но не в Hr 2-2. При электрофорезе Hr 2-1 и Hr 2-2 обнаруживается ряд компонентов с меньшей подвижностью, чем у Hr 1-1, причем подвижности компонентов Hr 2-1 не совпадают с подвижностью компонентов Hr 2-2. Таким образом, наборы компонентов, соответствующие этим трем типам гаптоглобина, качественно различны, и если просто смешать сыворотки 1-1 и 2-2, то получить набор компонентов, характерный для типа 2-1, не удастся. Практически все европейское население можно распределить по трем группам соответственно этим трем типам гаптоглобина. Около 16% принадлежат к типу 1-1, около 48% — к типу 2-1 и около 36% — к типу 2-2. Типы гаптоглобина детерминированы генетически. Первоначально на основе данных посемейных обследований был сделан вывод, что в их определении участвует пара аллелей аутосомного локуса [594, 595], названных Hr^1 и Hr^2 . Возникло представление, что индивидуумы Hr 1-1 гомозиготны по Hr^1 , индивидуумы Hr 2-2 гомозиготны по Hr^2 , а индивидуумы Hr 2-1 — гетерозиготны. Отсюда следует, что гомозиготы различаются между собой по подвижности и по числу имеющих у них белковых компонентов, а у гетерозигот образуется серия белковых компонентов, качественно отличных от компонентов, присутствующих у гомозигот обоих типов.



Ф и г. 36. Электрофоретическое разделение цепей hα гаптоглобинов различных типов.

Электрофорез в крахмальном геле ■ формиатном буфере (pH 4,0), содержащем мочевины в концентрации 8,0 моль/л [590, 592].

Исследование структуры очищенных гаптоглобинов сыворотки различных типов значительно продвинуло решение этого вопроса. Оказалось, что наборы компонентов в случаях Hr 2-1 и 2-2 — это не что иное, как серии мультимеров с возрастающей молекулярной массой [589]. Эти компоненты, а также единственный компонент, характерный для Hr 1-1, состоят из полипептидных цепей двух различных типов (α- и β-цепи), причем каждая из них представлена в молекуле дважды или более, в зависимости от молекулярной массы молекулы. Различия трех обычных типов гаптоглобина определяются структурными особенностями α-цепи [592]. β-Цепи, по-видимому, идентичны для всех типов гаптоглобина [105]. В молекуле гаптоглобина полипептидные цепи сшиты поперечными дисульфидными связями.

При электрофоретическом изучении α-цепей, выделенных из разных гаптоглобинов, была обнаружена дальнейшая генетически обусловленная гетерогенность [108, 590, 592]. В препаратах гаптоглобина 1-1 можно различить два типа α-цепей. Их обозначают hα 1Fα и hα 1Sα, причем в условиях, использованных для разделения, цепи hα 1Fα имеют несколько большую электрофоретическую подвижность (фиг. 36). У некоторых индивидуумов гаптоглобин 1-1 содержит только цепи hα 1Fα, а у других — только hα 1Sα.

Кроме того, имеется еще одна, третья группа людей, в сыворотке которых также присутствует Hр 1-1; у них синтезируются оба типа α -цепей — hр 1F α и hр 1S α . Описанные «маскированные» отличия в пределах типа Hр 1-1 детерминированы генетически, причем данные о характере расщепления, полученные при посемейных обследованиях, показывают, что должно существовать два разных аллеля *Hр*¹. Их обозначают *Hр*^{1F} и *Hр*^{1S}. У гомозигот по одному из этих аллелей образуется Hр 1-1, содержащий только один вид α -цепи. У гетерозигот (генотип *Hр*^{1F}*Hр*^{1S}) образуется Hр 1-1, молекулы которого содержат два вида α -цепей.

В большинстве случаев α -цепь, полученная из Hр 2-2, при электрофорезе обнаруживается в виде одной слабо подвижной зоны. Этот вид α -цепи обозначают hр 2 α . Как и следовало ожидать, удается различить два подтипа Hр 2-1. Hр 2-1 первого подтипа, соответствующий генотипу *Hр*^{1F}*Hр*², содержит α -цепи hр 1F α и hр 2 α . Hр 2-1 второго подтипа (генотип *Hр*^{1S}*Hр*²) содержит цепи hр 1S α и hр 2 α . Интересно, что три подтипа Hр 1-1 не удается различить с помощью обычного электрофореза нативных гаптоглобинов, так же как и два подтипа Hр 2-1.

При исследовании структуры выделенных α -цепей обнаружались значительные и притом совершенно неожиданные различия между hр 1S α и hр 1F α , с одной стороны, и hр 2 α — с другой [109, 591]. Установлено, что полипептиды hр 1F α и hр 1S α имеют молекулярную массу около 9000 каждый, тогда как полипептид hр 2 α почти в 2 раза крупнее — его молекулярная масса около 16 000. Полипептиды hр 1F α и hр 1S α содержат по 83 аминокислоты, а полипептид hр 2 α — 142 аминокислоты [61]. Таким образом, аллель *Hр*², по-видимому, определяет полипептидную цепь, размеры которой почти в два раза превышают размеры полипептидных цепей, определяемых аллелями *Hр*^{1F} и *Hр*^{1S}.

На пептидных картах, полученных после обработки цепей hр 1F α и hр 1S α химотрипсином, видно, что они различаются всего по одному пептиду. В цепи hр 1F α содержится пептид «F», отсутствующий в гидролизате hр 1S α , и наоборот, в цепи hр 1S α обнаруживается пептид «S», отсутствующий в гидролизате hр 1F α [591]. Аминокислотный анализ показывает, что остаток лизина, присутствующий в пептиде «F», в пептиде «S» замещен на остаток глутаминовой кислоты. Как выяснилось в результате дальнейшего изучения полной последовательности, цепи hр 1F α и hр 1S α различаются только по этой одной аминокислоте [61]. Таким образом, можно предполагать, что аллели *Hр*^{1F} и *Hр*^{1S} возникли один из другого благодаря обычной мутации, заключающейся в изменении одного основания ДНК.

При исследовании пептидной карты, полученной путем гидролиза цепи hр 2 α , выяснилась совершенно необычная ситуация. Оказалось, что в ней содержатся все пептиды, присутствующие и в hр 1F α и в hр 1S α , в том числе оба специфических пептида

«F» и «S». Кроме того, в ней имеется дополнительный пептид «J», отсутствующий и в $hr\ 1F\alpha$ и в $hr\ 1S\alpha$ [591].

В настоящее время установлены полные аминокислотные последовательности всех трех полипептидных цепей — $hr\ 1F\alpha$, $hr\ 1S\alpha$ и $hr\ 2\alpha$, определяемых тремя обычными аллелями: Hr^{1F} , Hr^{1S} и Hr^2 (фиг. 37) [61]. Цепи $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$, содержащие по 83 аминокислоты, различаются только в положении 54: в цепи $hr\ 1F\alpha$ в этом положении стоит лизин, а в цепи $hr\ 1S\alpha$ — глутаминовая кислота. Замечательно, что в цепи $hr\ 2\alpha$, состоящей из 142 аминокислот, первые 71 аминокислота расположены в последовательности, идентичной последовательности первых 71 аминокислоты в цепях $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$; начиная же с положения 71 и вплоть до карбоксильного конца последовательность цепи $hr\ 2\alpha$ идентична последовательности цепей $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$ начиная с положения 12 и кончая С-концом этих цепей. Положения, в которых в цепях $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$ стоят лизин и глутаминовая кислота, в цепи $hr\ 2\alpha$ соответствуют положениям 54 и 113. Известно, что в одном из этих положений в цепи $hr\ 2\alpha$ находится лизин, а в другом — глутаминовая кислота, однако установить, какое именно положение занимает каждая из этих аминокислот, не удалось. Пептид «J», обнаруживаемый на пептидной карте $hr\ 2\alpha$, имеет последовательность, соответствующую середине полипептидной цепи. Его отношение к N-концевой и С-концевой последовательностям цепей $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$ показано на фиг. 38.

Таким образом, цепь $hr\ 2\alpha$ можно рассматривать как соединенные конец к концу полипептидные цепи $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$, причем в месте соединения утрачено 12 (или 13) остатков с С-конца одного из полипептидов $hr\ 1\alpha$ и 12 (или 11) остатков с N-конца другого полипептида $hr\ 1\alpha$. Это означает, что аллель Hr^2 есть не что иное, как почти полная дупликация аллеля Hr^1 . Его нуклеотидная последовательность должна быть в 2 раза длиннее последовательностей аллелей Hr^{1F} или Hr^{1S} , причем вторая половина последовательности, по-видимому, представляет собой точную копию первой, не считая того, что они различаются по одной паре оснований соответственно различию аминокислотных последовательностей в цепях $hr\ 1F\alpha$ и $hr\ 1S\alpha$. Кроме того, примерно 24×3 пары нуклеотидов в точке соединения утрачено.

Как возник такой аллель? Вполне правдоподобное объяснение сводится к тому, что вначале он появился у гетерозиготного индивидуума с генотипом $Hr^{1F}Hr^{1S}$ в результате хромосомной перестройки, которая привела к практически полному соединению (конец к концу) нуклеотидных последовательностей Hr^{1F} и Hr^{1S} в одной хромосоме. Такая хромосомная перестройка могла произойти в результате того, что в каждой из двух гомологичных хромосом (или хроматид) одновременно произошел разрыв, после чего произошел кроссинговер и затем перекрестное воссоединение (фиг. 39) [588]. Можно предположить, что разрыв в одной хромосоме воз-

	10	20
1		
NH ₂ -Вал-Асп-Асп-Сер-Гли-Асп-Асп-Вал-Тре-Асп-Иле-Ала-Асп-Асп-Гли-Гли-Про-Про-Про-Лиз-		40
	30	
-Цис-Иле-Ала-Гис-Гли-Тир-Вал-Глу-Гис-Сер-Вал-Арг-Тир-Гли-Цис-Лиз-Асп-Тир-Тир-Лиз-		60
	50	-Лиз-
-Лей-Арг-Тре-Гли-Гли-Асп-Гли-Вал-Тир-Тре-Лей-Асп-Асп-Глу-Лиз-Гли-Три-Иле-Асп-Лиз-		80
	70	
-Ала-Вал-Гли-Асп-Лиз-Лей-Про-Глу-Цис-Глу-Ала-Вал-Гли-Лиз-Про-Лиз-Асп-Про-Ала-Асп-		
	83	
-Про-Вал-Гли-СООН		

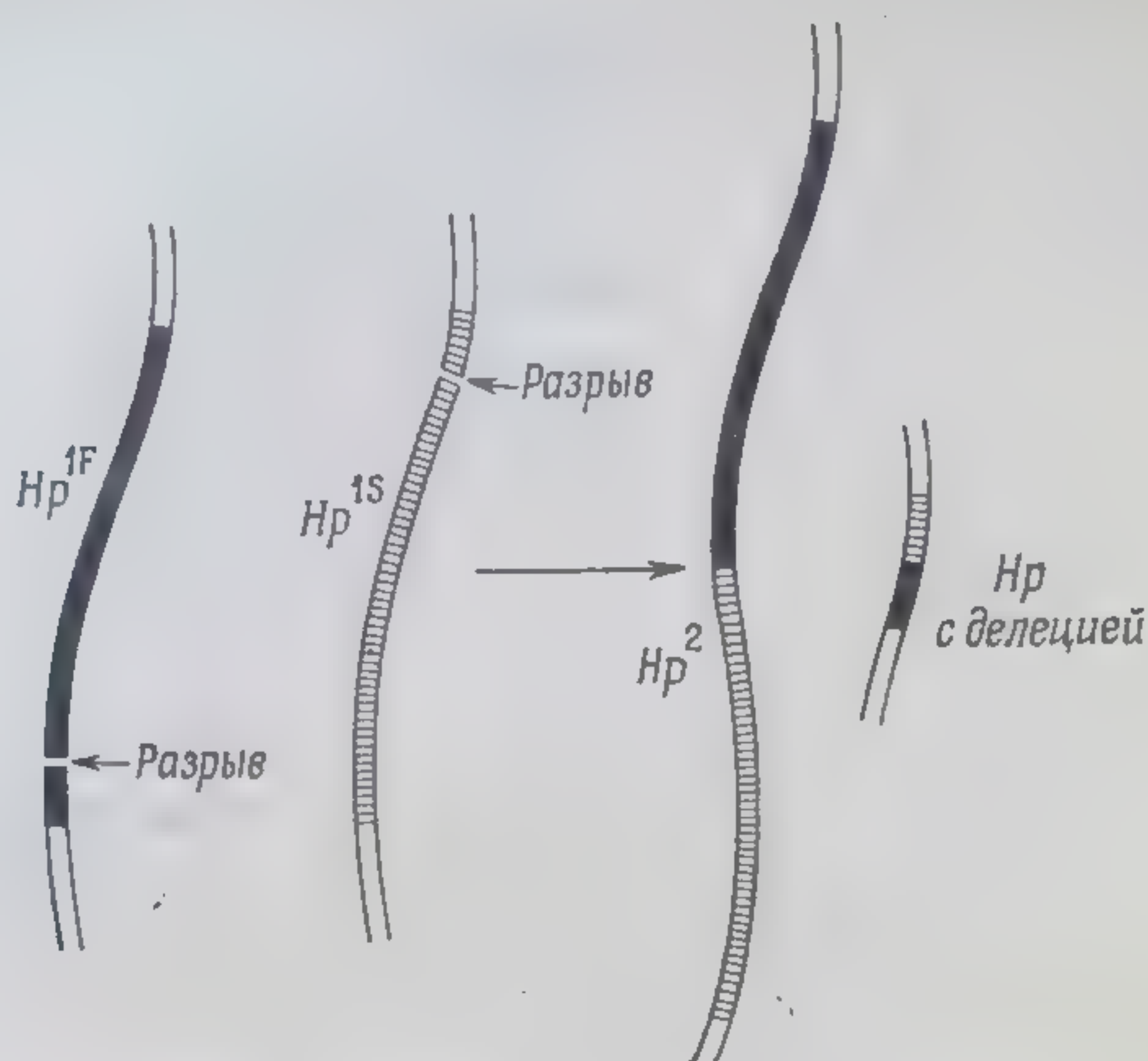
	10	20
NH ₂ -Вал-Асп-Асп-Сер-Гли-Асп-Асп-Вал-Тре-Асп-Иле-Ала-Асп-Асп-Гли-Гли-Про-Про-Про-Лиз-		40
	30	
-Цис-Иле-Ала-Гис-Гли-Тир-Вал-Глу-Гис-Сер-Вал-Арг-Тир-Гли-Цис-Лиз-Асп-Тир-Тир-Лиз-		60
	50	-Лиз-
-Лей-Арг-Тре-Гли-Гли-Асп-Гли-Вал-Тир-Тре-Лей-Асп-Асп-Глу-Лиз-Гли-Три-Иле-Асп-Лиз-		80
	70	
-Ала-Вал-Гли-Асп-Лиз-Лей-Про-Глу-Цис-Глу-Ала-Асп-Асп-Гли-Гли-Про-Про-Про-Лиз-Цис-		100
	90	
-Иле-Ала-Гис-Гли-Тир-Вал-Глу-Гис-Сер-Вал-Арг-Тир-Гли-Цис-Лиз-Асп-Тир-Тир-Лиз-Лей-		120
	110	-Лиз-
-Арг-Тре-Гли-Гли-Асп-Гли-Вал-Тир-Тре-Лей-Асп-Асп-Глу-Лиз-Гли-Три-Иле-Асп-Лиз-Ала-		140
	130	
-Вал-Гли-Асп-Лиз-Лей-Про-Глу-Цис-Глу-Ала-Вал-Гли-Лиз-Про-Лиз-Асп-Про-Ала-Асп-Про-		
	142	
-Вал-Гли-СООН		

Ф и г. 37. Аминокислотные последовательности различных α -цепей гаптоглобина (hp 1F α , hp 1S α и hp 2 α [61]). Вверху — hp 1F α (в положении 54 стоит лизин) ■ hp 1S α (в положении 54 глутаминовая кислота); внизу — hp 2 α ; поскольку неизвестен порядок замещений, ■ положениях 54 ■ 113 показаны и лизин, и глутаминовая кислота.

Ф и г. 38. Сравнение гаптоглобина — соединения, полученного путем синтеза N-концевой части гаптоглобина (hp 2 α) (остатки 58...), близкие к диссоциированной хромосоме. Пункты — концы каждого звена.

Слева N-концевая последовательность цепи $hr\ 1\alpha$ (остатки 1...26); в центре — пептид «J» цепи $hr\ 2\alpha$ (остатки 58...85). Справа — C-концевая последовательность цепи $hr\ 1\alpha$ (остатки 58...83).

ник ближе к дистальному концу локуса гаптоглобина, а в другой гомологичной хромосоме — ближе к проксимальному концу локуса гаптоглобина. После перекрестного воссоединения в одной хромосоме сосредоточилась большая часть обоих аллелей, соединенных конец к концу, а в другой остались лишь небольшие фрагменты каждого аллеля. Иными словами, в одной хромосоме произошла

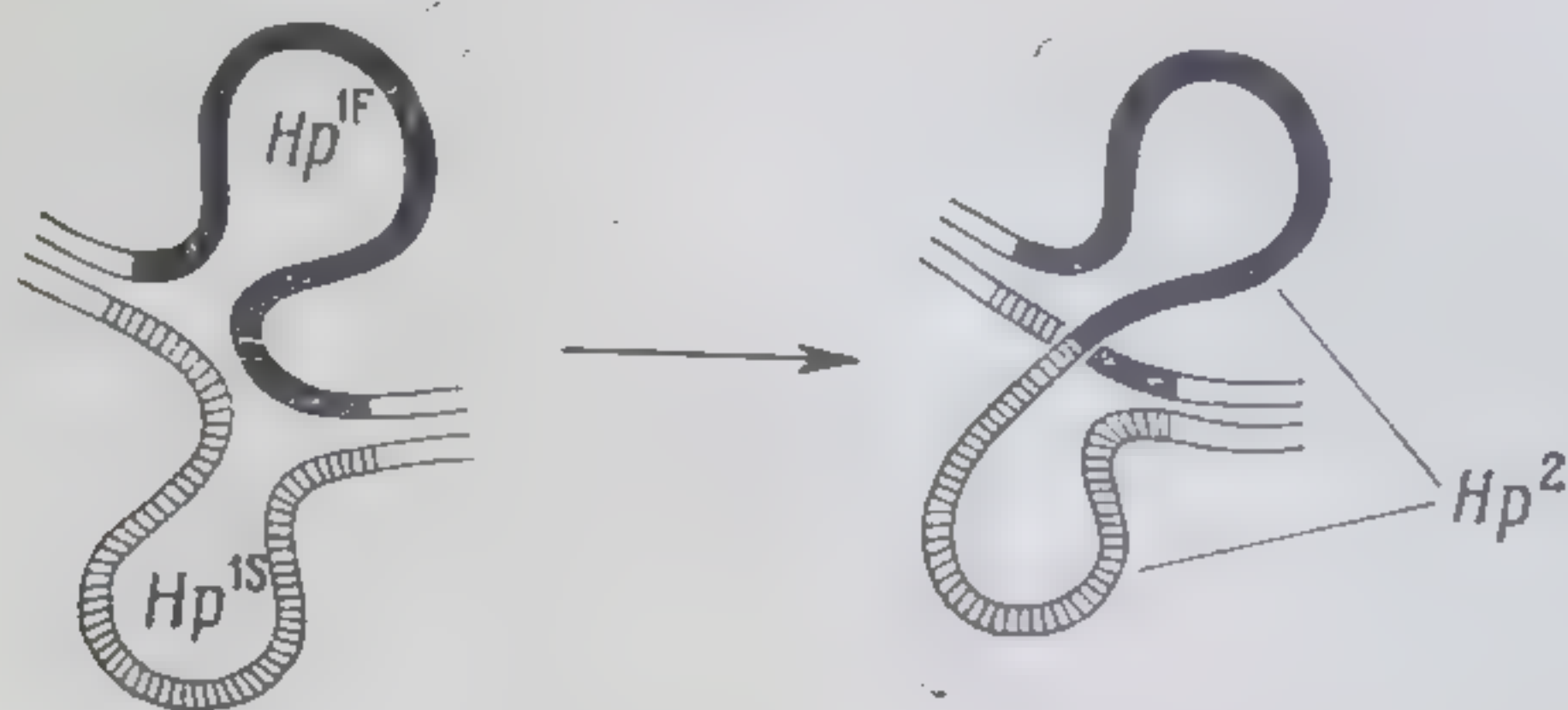


Ф и г. 39. Предполагаемый механизм образования аллеля Hr^2 в результате образования разрывов хромосом в пределах аллелей Hr^{1F} и Hr^{1S} с последующим aberrантным воссоединением.

почти полная дупликация локуса Hra (аллель Hr^2), а в другой — крупная делеция, так что сохранился лишь короткий фрагмент нуклеотидной последовательности, который не может определять синтез жизнеспособной полипептидной цепи. Формально такую ситуацию можно рассматривать как реципрокную транслокацию между двумя гомологичными хромосомами.

Транслокации сегментов различных хромосом, вероятно, возникают как следствие случайных разрывов, за которыми следует неправильное воссоединение, как это неоднократно наблюдалось. При обследовании с помощью обычных цитогенетических методов такие хромосомные транслокации были обнаружены; оказалось, что они встречаются в популяции с небольшой, но заметной частотой [114]. В большинстве случаев их можно идентифицировать лишь тогда, когда изменения в хромосомах достаточно велики, так что их можно заметить в микроскоп — по изменению размера хромосом, наблюдаемых в митозе, или по aberrантной конъюгации в мейозе. Можно предполагать, что аналогичные изменения, не обнаруживаемые с помощью микроскопа из-за их незначительности, происходят не менее часто. Вполне вероятно, что ген Hr^2 возник именно таким путем.

Другой возможный способ возникновения аллеля Hr^2 — так называемый неравный кроссинговер [61, 591]. Можно представить себе, что в мейозе у гетерозиготного индивидуума с генотипом $Hr^{1F}Hr^{1S}$ произошла aberrантная конъюгация двух гомологичных хромосом и аллели Hr^{1F} и Hr^{1S} соединились неправильно; если при кроссинговере дистальный конец одного аллеля соединился



Ф и г. 40. Предполагаемый механизм образования аллеля Hpr^2 в результате неравного кроссинговера между аллелями Hpr^{1F} и Hpr^{1S} .

с проксимальным концом другого, то в одной из хромосом мог возникнуть новый аллель Hpr^2 (фиг. 40). Считается, однако, что для неравного кроссинговера необходима точная гомология сегментов ДНК двух участков хромосом, участвующих в кроссинговере, — иначе невозможна аберрантная конъюгация. Исходя из известных аминокислотных последовательностей, Блэк и Диксон [61] пришли к выводу, что степень гомологии между проксимальными и дистальными отделами участков ДНК, кодирующих цепи $h\alpha$ и $h\beta$, достаточно высока, чтобы считать эту гипотезу происхождения гена Hpr^2 обоснованной. Хотя вопрос окончательно еще не решен, гипотеза случайных разрывов и воссоединений в настоящее время кажется более правдоподобной. Между этими двумя гипотезами есть одно существенное отличие: в случае неравного кроссинговера аллель Hpr^2 должен возникать при конъюгации хромосом в мейозе, тогда как по другой гипотезе это не обязательно.

Как бы ни возник аллель Hpr^2 , несомненно, что неравный кроссинговер важен для образования других вариантов гаптоглобина, ведущих свое происхождение от цепи $h\alpha$. Этот вопрос будет обсуждаться ниже в этой же главе.

II. ДУПЛИКАЦИЯ ГЕНОВ И ЭВОЛЮЦИЯ БЕЛКА

Очевидным следствием увеличения длины полипептида $h\alpha$ является тенденция белка, содержащего этот полипептид, к образованию серии стабильных мультимеров все большей молекулярной массы. Вероятно, это происходит благодаря тому, что за счет добавочных остатков цистеина удлиненных полипептидов образуются дисульфидные мостики между цепями; таким образом происходит стабилизация молекул гаптоглобина, содержащих большое число полипептидных субъединиц. Интересно, что у приматов многочисленные мультимеры, столь характерные для Hr 2-2 и Hr 2-1 человека, не были обнаружены (проводились сравнительные исследования гаптоглобинов целого ряда приматов [483]). Поэтому

возникло предположение, что хромосомная перестройка, послужившая причиной появления дублицированной полипептидной структуры, произошла в результате единичного события через некоторое время после того, как эволюция уже привела к появлению человека. Исследование распределения типов гаптоглобина в масштабах всего земного шара показало, что аллель Hr^2 встречается с поразительно высокой частотой в самых разных популяциях [577]. Например, у европейцев около 60% всех аллелей Hr составляет Hr^2 , а в некоторых районах Индии и Азии он был обнаружен даже с более высокой частотой. Таким образом, несмотря на сравнительно недавнее происхождение аллель Hr^2 широко распространен у человека (фиг. 82). Итак, перед нами убедительный пример эволюционного изменения общей структуры белка [140].

В большинстве случаев удлиненные полипептидные цепи, возникшие в результате такой частичной дубликации гена, вряд ли будут иметь стабильную конформацию. Увеличение длины полипептидной цепи должно сопровождаться значительным изменением трехмерной укладки молекулы. Если же необходимо, чтобы полипептид соответствовал другим полипептидам в белковой молекуле, то кажется просто невероятным, чтобы этим способом мог возникать жизнеспособный, полноценный в функциональном отношении белковый продукт. Можно считать, что только в исключительных случаях за счет случайных разрывов и воссоединений хромосом может возникать жизнеспособный белок с сильно измененной структурой.

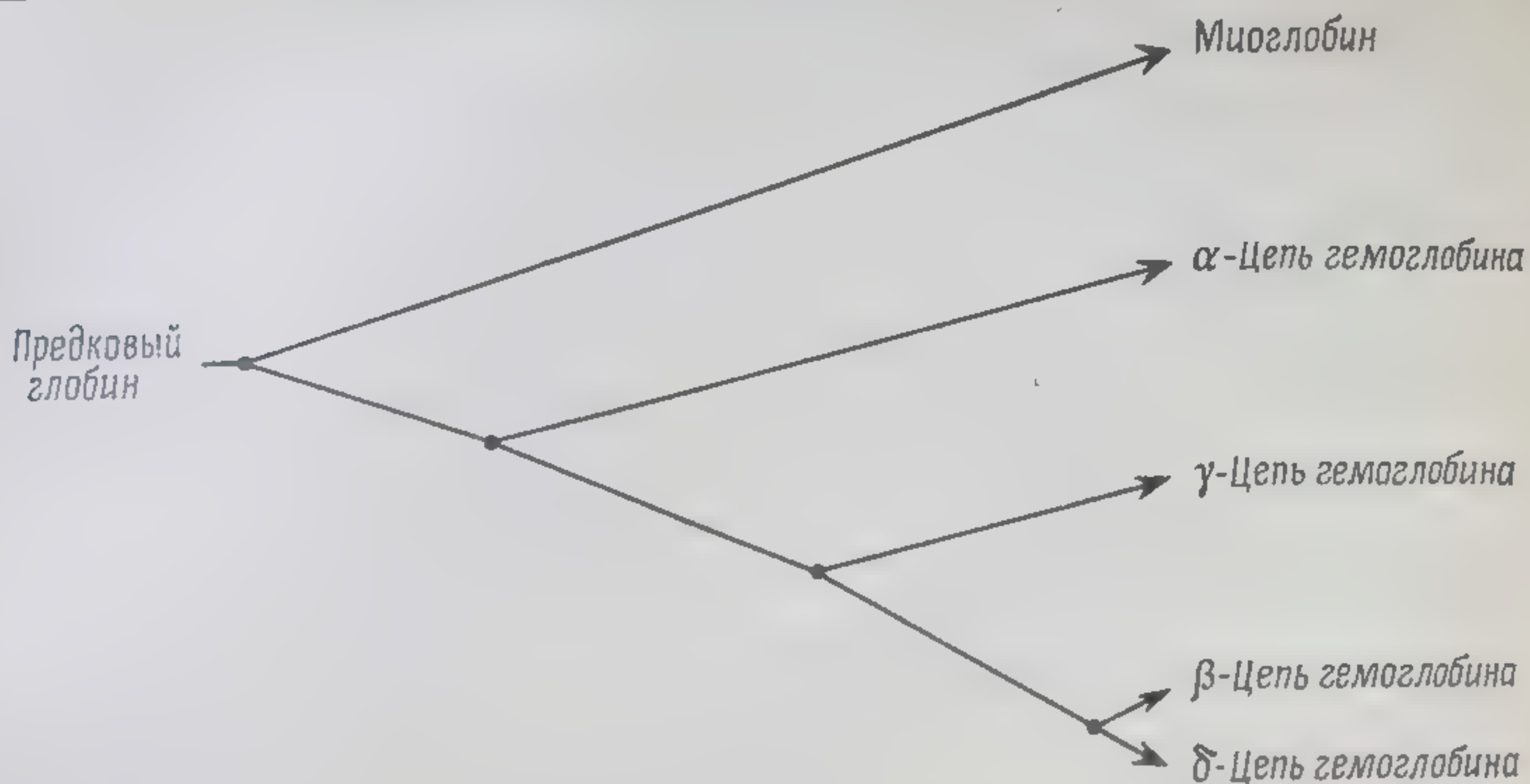
Однако независимо от этого, хромосомные перестройки, очевидно, играют важную роль в эволюции белка, хотя эта их роль опосредуется несколько иным путем. Если бы разрывы в гомологичных хромосомах (или в паре хроматид) происходили не в самом участке ДНК, определяющем данную полипептидную цепь, а там, где он начинается или кончается, то при последующем перекрестном воссоединении могла бы происходить полная дубликация гена. Иными словами, в одной хромосоме появилось бы два одинаковых гена, расположенных последовательно, причем каждый из них по отдельности способен определять полипептидную цепь одинаковой длины и структуры. Такой тип дубликаций возможен и для более длинных сегментов хромосом, содержащих несколько генов. Можно представить себе также другие хромосомные перестройки за счет разрывов и абберрантных воссоединений, в результате которых происходит дубликация генов [672]. При этом дублицированные участки могут быть расположены в одной хромосоме непосредственно друг за другом (как в случае гаптоглобина) или же могут быть разделены недублицированными участками; далее, оба дублицированных участка могут быть ориентированы в одном направлении или же один из них может оказаться повернутым на 180° . Более того, возможны ситуации, когда дублицированные сегменты находятся в двух разных хромосомах.

Например, если в одной хромосоме (или в ее хроматиде) образовалось два разрыва, а в другой хромосоме — один разрыв, то свободный сегмент первой может встроиться в разрыв второй с последующим воссоединением.

Такая полная дупликация генов, независимо от того, как она возникла, потенциально имеет большое эволюционное значение. Хотя первоначально никакого структурного изменения соответствующего фермента или белка, возможно, и не произойдет, впоследствии не исключены мутации с заменой одного основания в том или другом дублицированном участке, и при благоприятном течении естественного отбора произойдет дивергенция структуры и функции полипептидных продуктов двух локусов.

Дупликации генетического материала в хромосомах были обнаружены много лет назад, и их значение для эволюции было оценено задолго до установления непосредственного влияния дупликаций на структуру белка. В 1951 году Е. Льюис [378] писал: «При мутации гена, сопровождающейся возникновением новой функции, должна теряться или нарушаться его способность к образованию первоначального непосредственного продукта. Поскольку невероятно, что старая функция совершенно несущественна с точки зрения выживания организма, новый ген будет теряться прежде, чем он сможет быть испробован, если только в результате дупликации старый ген не сохранит старую функцию».

Эту концепцию можно иллюстрировать на примере различных, хотя и структурно близких полипептидных цепей α , β , γ и δ , встречающихся в разных формах нормального гемоглобина A, A₂ и F. В аминокислотных последовательностях этих четырех полипептидов отмечается сильно выраженная гомология, которую легко объяснить исходя из предположения, что гены разных цепей гемоглобина произошли от общего исходного гена. Можно представить себе, что эволюционный процесс состоял в ряде дупликаций гена, за которыми следовал период дивергентной эволюции на основе точковых мутаций, приводивших к различным заменам аминокислот. Ингрэм [291] предложил простую схему эволюции полипептидных цепей гемоглобина (фиг. 41). Порядок возникновения дупликаций, приведших к возникновению предковых форм четырех локусов гемоглобина, во времени должен быть связан с степенью гомологии аминокислотных последовательностей четырех полипептидных цепей в том виде, в каком они существуют у современного человека. Так, β - и δ -цепи различаются только по 10 из своих 146 аминокислот, и поэтому можно, видимо, считать, что как отдельные формы они появились сравнительно недавно. К тому же эти два локуса расположены очень близко друг к другу в одной хромосоме, что хорошо согласуется с представлением об их возникновении в результате дупликации гена. α -Цепь состоит из 141 аминокислотного остатка и отличается от β -, γ - и δ -цепей, имеющих по 146 остатков. Степень гомологии α -цепи и остальных



Ф и г. 41. Схема эволюции предкового глобина с образованием α -, β -, γ - и δ -цепей гемоглобина, а также цепи миоглобина [291].

Каждая точка на схеме указывает на появление дубликации гена.

цепей, как это ни поразительно, значительно меньше. Очевидно, дивергенция предковой формы α -цепи произошла гораздо раньше. Можно представить себе, что различия в числе аминокислотных остатков возникли либо за счет небольших делеций, либо за счет наращивания нуклеотидных последовательностей благодаря разрывам и воссоединениям хромосом после того, как началась дивергенция. Отсутствие тесного сцепления между α -локусом, с одной стороны, и β - или δ -локусом — с другой, означает, по-видимому, что одновременно с первоначальной дубликацией произошло разделение локусов или же что транслокация хромосомного сегмента, вызвавшая разделение этих локусов, произошла на какой-то более поздней стадии их эволюции.

Ингрэм предположил, что ген миоглобина также ведет свое происхождение от предкового гена гемоглобинов. Миоглобин — гемсодержащий белок, участвующий в транспорте кислорода в мышцах. В отличие от гемоглобина, он состоит только из одной полипептидной цепи, которая по своему размеру (около 150 аминокислотных остатков) не слишком отличается от полипептидных цепей молекулы гемоглобина. Оказалось, что трехмерная структура миоглобина поразительно похожа на структуру полипептидов гемоглобина, причем между аминокислотными последовательностями миоглобина и полипептидных цепей гемоглобина имеется некоторая гомология. Возможно, на какой-то стадии своей эволюции цепи гемоглобина приобрели способность объединяться в димеры, а впоследствии и в тетрамеры, тогда как с цепью миоглобина этого не случилось. Тетрамерная форма обеспечивает возможность так называемого взаимодействия гем—гем и в конечном счете

возникновение молекулы гемоглобина, для которого характерна сигмоидная кривая диссоциации комплекса гемоглобин — кислород; такой характер процесса позволяет эффективно переносить кислород из легких в ткани. Кривая диссоциации для миоглобина с его единственной полипептидной цепью и единственной гемогруппой имеет форму гиперболы, соответствующую его роли в качестве депо кислорода в мышцах.

Хотя детали всех этих эволюционных изменений до сих пор во многом неясны, основная идея, согласно которой различающиеся по структуре полипептиды одного и того же или близких белков могут возникать за счет дупликаций из единственного исходного гена, очень важна. Это совершенно новый подход к проблеме возникновения структурной сложности у многих ферментов и других белков, молекулы которых состоят из нескольких полипептидных цепей, хотя и различающихся по строению, но тем не менее очень сходных между собой.

III. НЕРАВНЫЙ КРОССИНГОВЕР

Кроссинговер — обычный процесс, происходящий между хроматидами гомологичных хромосом во время их конъюгации, в мейозе. Механизм конъюгации, или синапсиса, при редукционном делении неизвестен. Обычно это очень точный процесс, для которого необходима точная подгонка гена к гену по всей длине конъюгирующих хромосом или по крайней мере на значительном протяжении. Это соответствие в свою очередь, по-видимому, обеспечивается близким соответствием нуклеотидных последовательностей пар аллелей. При такой точной подгонке пар гомологичных хромосом кроссинговер, происходящий в том или ином участке хроматид, как правило, не изменяет и не прерывает нуклеотидные последовательности ДНК, что можно было бы ожидать в противном случае. Там же, где ранее произошла дупликация нуклеотидных последовательностей ДНК, с большей вероятностью должна происходить «неправильная» конъюгация и кроссинговер в этих участках приведет к перестройке последовательностей ДНК и, следовательно, к изменениям кодируемых ими полипептидов. Этот процесс обычно называют *неравным кроссинговером*. Используя представление о неравном кроссинговере, удастся объяснить характерные структурные аномалии, обнаруженные у определенной группы редких вариантов гемоглобина, известных под названием гемоглобины «Лепоре» [25].

1. Гемоглобины Лепоре

В гемоглобинах Лепоре, названных так по фамилии семьи, в которой они были впервые обнаружены [186], α -цепи вполне обычны, зато другие цепи имеют совершенно необычную структуру. β - и δ -цепи гемоглобина Лепоре, как и нормальные β - и δ -це-

пи, содержат по 146 аминокислот. Однако если первая часть их последовательности не отличается от первой части последовательности δ -цепи, то остальная ее часть соответствует второй части последовательности нормальной β -цепи. Детально исследованы два типа гемоглобинов Лепоре. В одном из них, Hb-Лепоре^{Вашингтон}, смена δ -подобной последовательности на последовательность β -типа происходит между положениями 87 и 116 [25, 356]. В другом гемоглобине Hb-Лепоре^{Голландия} смена последовательностей происходит между положениями 22 и 50 [32, 117].

Эти гемоглобины Лепоре обнаружены главным образом у гетерозигот, у которых на их долю приходится около 10—15% всего гемоглобина, а на HbA приходится большая часть оставшегося. Однако обнаружены и гомозиготные индивидуумы. Характерно, что у них отсутствует HbA и HbA₂ и отмечается хроническая гемолитическая анемия различной степени тяжести (от умеренной до сильной) [145, 463].

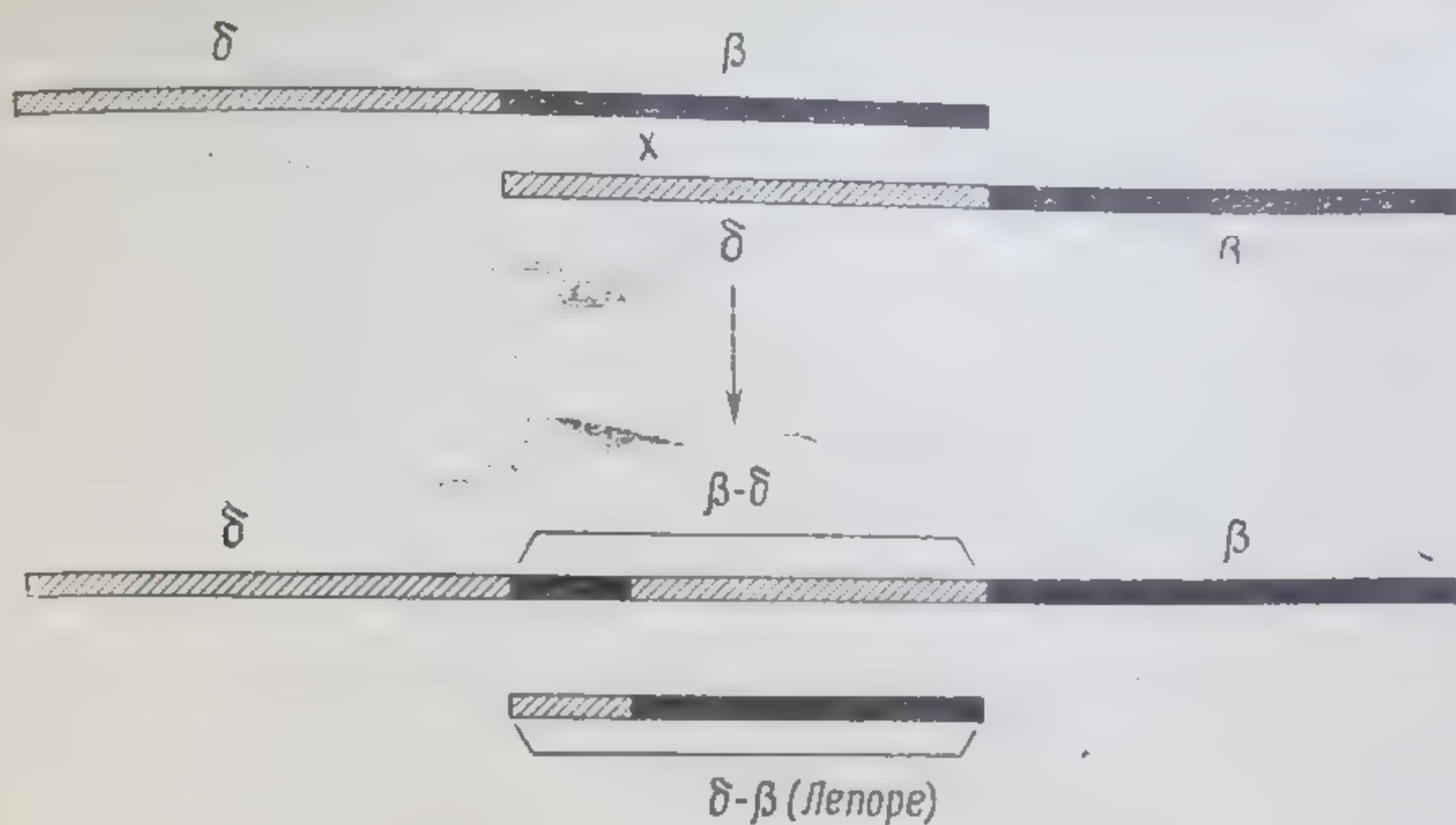
Последовательности нормальных δ - и β -цепей отличаются одна от другой по 10 аминокислотным остаткам в положениях 9, 12, 22, 50, 86, 87, 116, 117, 125 и 126 (фиг. 17). Следовательно, нуклеотидные последовательности соответствующих генов, вероятно, идентичны на большей части своего протяжения. Более того, как явствует из данных анализа сцепления, обсуждавшихся ранее, эти два локуса находятся в одной хромосоме очень близко друг к другу, а может быть даже расположены непосредственно друг за другом. Таким образом, в мейозе в результате абберантной конъюгации β -локус одной хромосомы может случайно соединяться с δ -локусом гомологичной хромосомы. Если после этого на данном участке произойдет кроссинговер, то может возникнуть новый аллель, кодирующий полипептидную цепь с δ -последовательностью на одном конце и с β -последовательностью на другом, т. е. цепь с той же структурой, что у гемоглобинов Лепоре.

На фиг. 42 показано, как неравный кроссинговер между β - и δ -локусами может привести к возникновению двух аномальных хромосомных продуктов. В одной хромосоме нормальные β - и δ -аллели будут отсутствовать, но появится новый ген (обозначенный δ - β). В другой хромосоме будут содержаться нормальные аллели β и δ , а между ними будет расположен новый ген (обозначенный β - δ). Поскольку обе разновидности детально исследованных гемоглобинов Лепоре связаны с дефектом как нормального HbA ($\alpha_2\beta_2$), так и нормального HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$), вероятно, что они произошли от продуктов кроссинговера, утративших нормальные β - и δ -гены. Продукты кроссинговера, сохранившие наряду с новым геном также нормальные аллели β и δ , должны кодировать синтез как нормальных β - и δ -цепей, так и аномальной β - δ -цепи, и потому обнаружить такие случаи оказывается значительно труднее.

Исследования структуры Hb-Лепоре^{Голландия} позволяют заключить, что в его цепях последовательность аминокислотных остат-

фиг. 42. Схема возникновения конъюгации

до положения
остатков в нор
последова
фиг. 43). Сле
между тр
послед
и 50 аналогич
и последовате
кроссинговер в лю
продукты. Зде
кроссингов
тех случаях
положе
остатки
нормальной
остатк
между
следовательно
данного
Необходимо от
Лепоре
сем
друг и вполне во
о вероятн
Условно его
в гемоглобинах
локуса, тогда

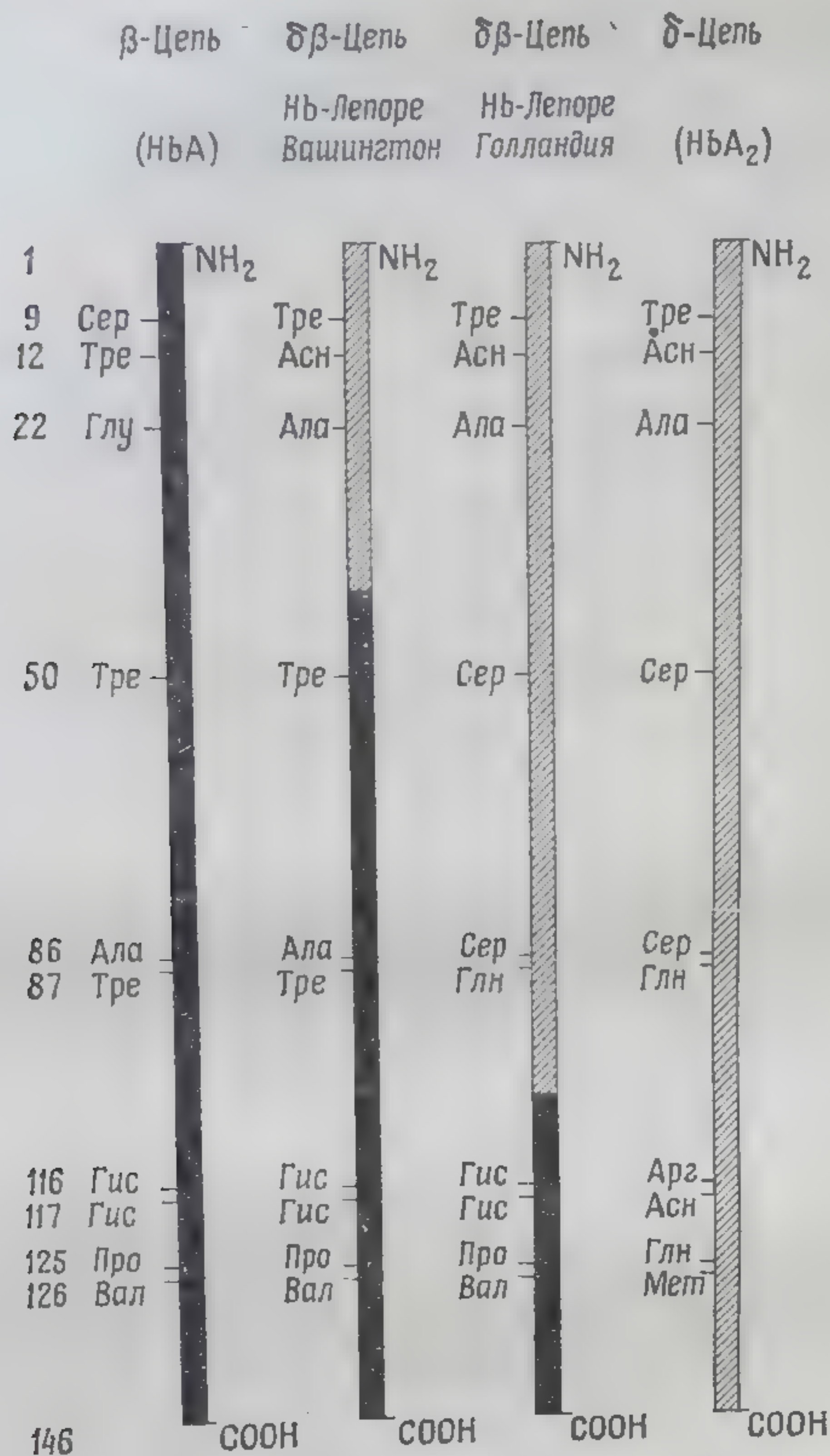


Ф и г. 42. Схема возникновения гена гемоглобина Лепоре за счет aberrантной конъюгации β - и δ -локусов гемоглобина и кроссинговера.

Крестиком обозначен участок кроссинговера.

ков до положения 22 включительно аналогична последовательности остатков в нормальной δ -цепи, тогда как с положения 50 начинается последовательность, идентичная таковой нормальной β -цепи (фиг. 43). Следовательно, кроссинговер должен был произойти где-то между триплетами, кодирующими эти два остатка. Аминокислотная последовательность в промежутке между положениями 22 и 50 аналогична как последовательности нормальной β -цепи, так и последовательности нормальной δ -цепи. Таким образом кроссинговер в любой точке этого участка мог давать идентичные продукты. Здесь мы сталкиваемся с общей особенностью неравного кроссинговера: он может давать одни и те же продукты даже в тех случаях, когда имеются значительные вариации действительного положения перекреста. В Hb-Лепоре^{Вашингтон} аминокислотные остатки до положения 87 включительно идентичны остаткам нормальной δ -цепи, а начиная с остатка № 116 и далее — идентичны остаткам нормальной β -цепи. Последовательности в промежутке между положениями 87 и 116 идентичны в β - и δ -цепях; следовательно, и в этом случае опять-таки кроссинговер в любой точке данного участка мог вызвать появление данного варианта.

Необходимо отметить, что результаты исследований структуры гемоглобинов Лепоре подтверждают заключение, полученное при обследовании семей (гл. II, разд. VI.3): β - и δ -локусы тесно сцеплены и вполне возможно, что они локализованы непосредственно друг за другом в одной хромосоме. На их основании можно также судить о вероятном порядке расположения этих локусов в хромосоме. Условно его можно обозначить $\delta\beta$, а не $\beta\delta$, так как N-конец в гемоглобинах Лепоре, очевидно, определяется первой частью δ -локуса, тогда как C-конец определяется второй частью β -локуса.



Фиг. 43. Сравнение аминокислотных последовательностей $\delta\beta$ -цепей Нб-Лепоре Вашингтон и Нб-Лепоре Голландия с последовательностями нормальных β -и δ -цепей.

Показаны только те аминокислоты, которые различаются в β - и δ -цепях.

2. Неравный кроссинговер как причина возникновения некоторых вариантов гаптоглобина

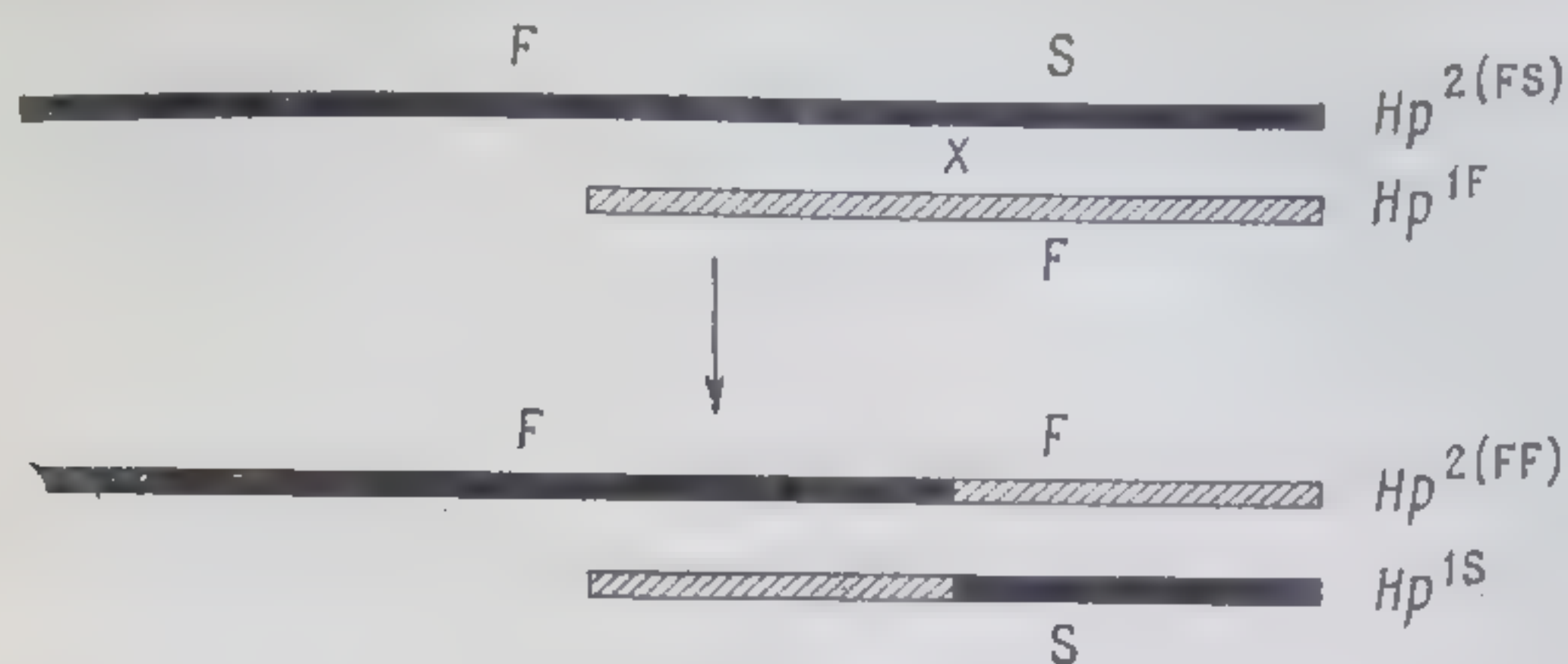
Можно ожидать, что сам характер дублированной последовательности аллеля Hr^2 также способствует неправильной конъюгации и, следовательно, ведет к неравному кроссинговеру. В результате могут возникать новые аллели, определяющие α -цепи гаптоглобина с отличающейся структурой [460, 591].

Например, при мейозе у гетерозиготного индивидуума с генотипом $Hr^{1F}Hr^2$ аллель Hr^{1F} в одной хромосоме может конъюги-

Фиг. 44. Схема кроссинговера...

равать с сегментом...
годаря близкому...
Если при этом в со...
та произойдет кр...
кроссинговера мож...
того — новый вари...
Нб-будет в сущно...
тированный аллель...
Нб-как Hr^{2FS} , тог...
Аналогичным обра...
ся при кроссингов...
именно Hr^{2SS} . Дей...
жены варианты по...
на свойствами, кот...
ной hr^{FFa} и hr^S ...
и Hr^{2SS} , возникши...
Если это действе...
значные формы ал...
на hr^{2a} должны...
вой кислоты в по...
тельности.

Нр...
Нр...
Нр...
Нр...
Следовательно...
но 10 различных...
лишь часть соот...
электрофоретичес...
цепи. Так, если...

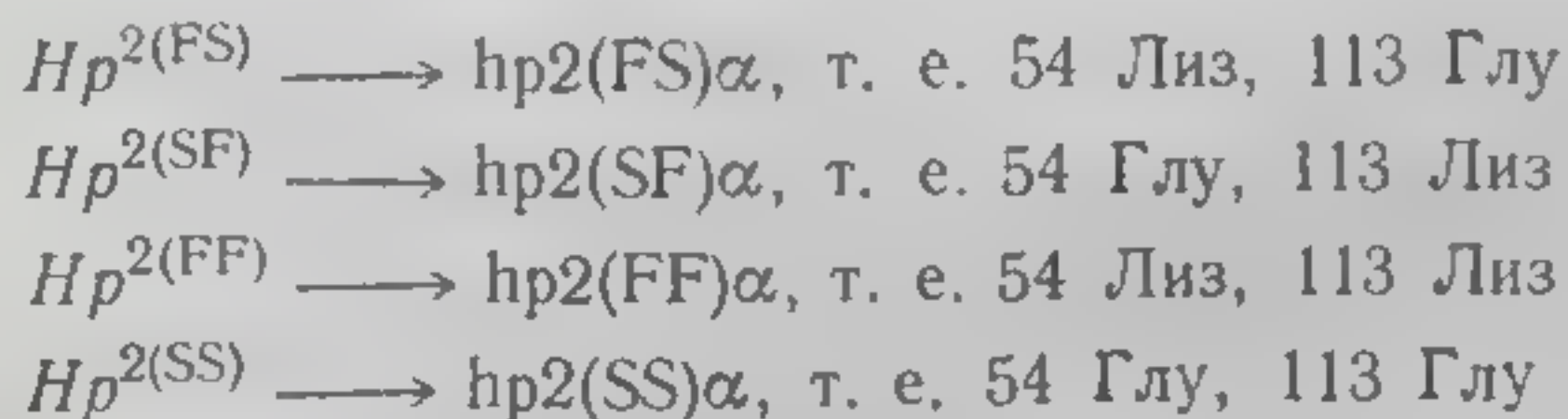


Ф и г. 44. Схема образования аллелей $Hr^{2(FS)}$ и Hr^{1S} в результате кроссинговера у гетерозиготы по аллелям $Hr^{2(FS)}$ и Hr^{1F} .

Буквами F и S указаны участки нуклеотидной последовательности генов гаптоглобина с измененными основаниями, соответствующие тем участкам полипептидов, в которых имеют место замещения лизин \leftrightarrow глутаминовая кислота (фиг. 37). Крестиком обозначен участок, который претерпевает кроссинговер.

ровать с сегментом « S » аллеля Hr^2 гомологичной хромосомы благодаря близкому сходству их нуклеотидных последовательностей. Если при этом в соответствующем участке конъюгирующих хроматид произойдет кроссинговер, то в качестве одного из продуктов кроссинговера может образоваться аллель Hr^{1S} , а в качестве другого — новый вариант аллеля Hr^2 (фиг. 44). Этот новый аллель Hr^2 будет в сущности представлять собой почти полностью дублированный аллель Hr^{1F} , и если мы запишем стандартную форму Hr^2 как $Hr^{2(FS)}$, тогда новый аллель можно записать в виде $Hr^{2(FF)}$. Аналогичным образом у гетерозиготы $Hr^{2(FS)}Hr^{1S}$ может появиться при кроссинговере другая возможная форма аллеля Hr^2 , а именно $Hr^{2(SS)}$. Действительно, у некоторых индивидуумов обнаружены варианты полипептида $hr\ 2\alpha$ с такими электрофоретическими свойствами, которые должны быть у полипептидов со структурой $hr\ FF\alpha$ и $hr\ SS\alpha$. Вероятно, они кодируются аллелями $Hr^{2(FF)}$ и $Hr^{2(SS)}$, возникшими в результате неравного кроссинговера [460].

Если это действительно так, то могут существовать четыре различные формы аллеля Hr^2 и соответствующие полипептидные цепи $hr\ 2\alpha$ должны различаться по наличию лизина или глутаминовой кислоты в положениях 54 и 113 аминокислотной последовательности:



Следовательно, для так называемого фенотипа $Hr\ 2-2$ возможно 10 различных генотипических комбинаций (табл. 7), однако лишь часть соответствующих полипептидов удастся различить электрофоретически, даже если исследовать выделенные $hr\ 2\alpha$ -цепи. Так, если при соответствующей технике электрофореза цепи

hp 2(FF) α и hp 2(SS) α , вероятно, можно разделить, равно как и отделить их от hp 2(FS) α и от hp 2(SF) α , то разделить цепи hp 2(FS) α и hp 2(SF) α , очевидно, совершенно невозможно [460]. Аналогично фенотип Hp 2-1 может определяться 8 различными генотипическими комбинациями (табл. 7), и опять-таки не все из них возможно различить с помощью электрофореза. Дифференциация всех этих различных типов, конечно, будет еще более сложной, если, как следует ожидать, случайно возникают самые разнообразные варианты гаптоглобина за счет изменений одного основания в ДНК, что приводит к замещению аминокислоты в той или другой α -цепи и соответственно к изменению заряда. Вообще говоря, аллели $Hr^{2(FF)}$ и $Hr^{2(SS)}$, по-видимому, встречаются значительно реже, чем другие Hr^2 -аллели ($Hr^{2(SF)}$ или $Hr^{2(FS)}$). Так, при массовом обследовании населения [458] было обнаружено, что хотя общая частота аллеля Hr^2 близка к 0,50, частота каждого из аллелей $Hr^{2(FF)}$ и $Hr^{2(SS)}$ по отдельности составляет лишь около 0,01.

ТАБЛИЦА 7

Возможные типы Hp2-2 и Hp2-1

Гаптоглобин 2-2		Гаптоглобин 2-1	
генотип	α -полипептиды	генотип	α -полипептиды
$Hr^{2(FS)} Hr^{2(FS)}$	hp 2(FS) α	$Hr^{1F} Hr^{2(FS)}$	hp 1F α + hp 2(FS) α
$Hr^{2(FS)} Hr^{2(SF)}$	hp 2(FS) α + hp 2(SF) α	$Hr^{1F} Hr^{2(SF)}$	hp 1F α + hp 2(SF) α
$Hr^{2(FS)} Hr^{2(FF)}$	hp 2(FS) α + hp 2(FF) α	$Hr^{1F} Hr^{2(FF)}$	hp 1F α + hp 2(FF) α
$Hr^{2(FS)} Hr^{2(SS)}$	hp 2(FS) α + hp 2(SS) α	$Hr^{1F} Hr^{2(SS)}$	hp 1F α + hp 2(SS) α
$Hr^{2(SF)} Hr^{2(SF)}$	hp 2(SF) α		
$Hr^{2(SF)} Hr^{2(FF)}$	hp 2(SF) α + hp 2(FF) α		
$Hr^{2(SF)} Hr^{2(SS)}$	hp 2(SF) α + hp 2(SS) α	$Hr^{1S} Hr^{2(FS)}$	hp 1S α + hp 2(FS) α
$Hr^{2(FF)} Hr^{2(FF)}$	hp 2(FF) α	$Hr^{1S} Hr^{2(SF)}$	hp 1S α + hp 2(SF) α
$Hr^{2(FF)} Hr^{2(SS)}$	hp 2(FF) α + hp 2(SS) α	$Hr^{1S} Hr^{2(FF)}$	hp 1S α + hp 2(FF) α
$Hr^{2(SS)} Hr^{2(SS)}$	hp 2(SS) α	$Hr^{1S} Hr^{2(SS)}$	hp 1S α + hp 2(SS) α

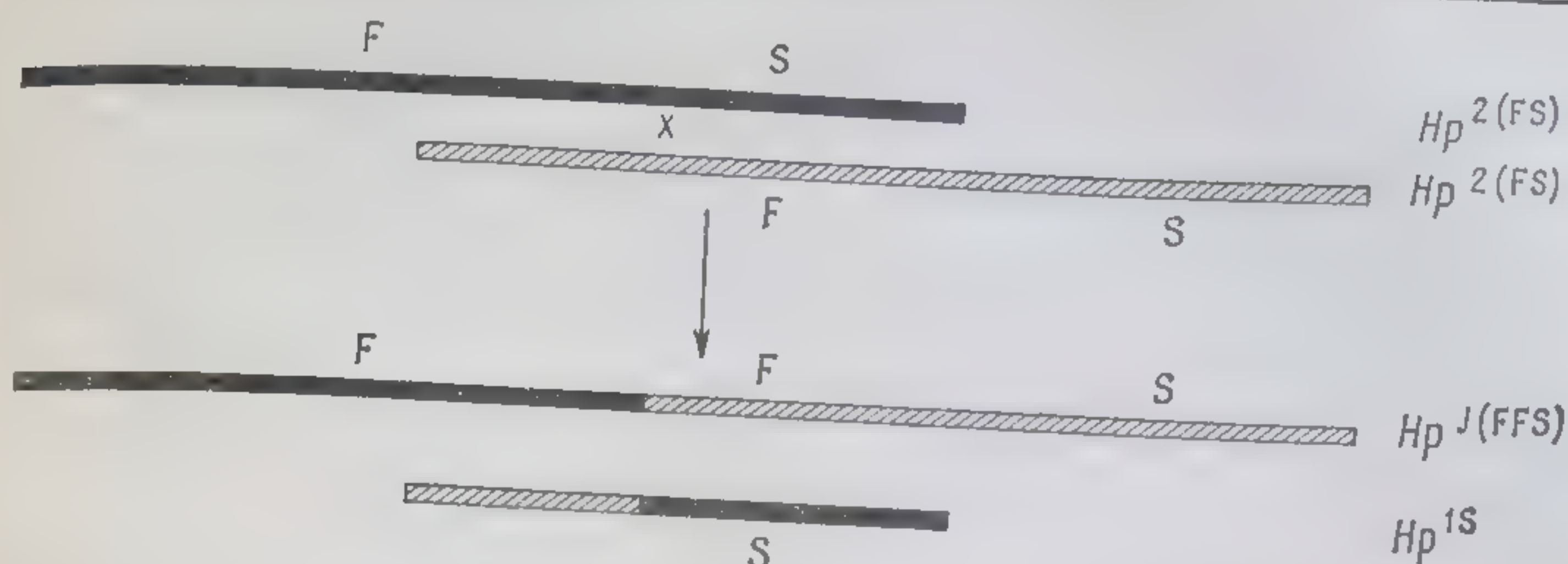
У гомозигот $Hr^2 Hr^2$ конъюгация в мейозе должна, как правило, происходить так же, как это имеет место в случае любых обычных пар аллелей. Однако благодаря близкой гомологии первой и второй половин последовательности Hr^2 существует, вероятно, весьма сильно выраженная тенденция к случайному неправильному соединению, когда первая половина одного аллеля конъюгирует со второй половиной другого (фиг. 45). Если при этом в конъюгирующем сегменте произойдет кроссинговер, то мо-

фиг. 45. Схема воз-
можного аллеля Hr^2

жет образоваться
 Hr^2 -аллель [588].
дировать цепь hp с
цепи hp 1F α или
необычный тип га-
птоглобина, из которого
такого размера [14
зада в деталях пока
зает собой продук
который мог случа
синговера при гено

IV. ДЕЛЕЦИИ

Некоторые мута-
ции или хроматиды
даваться последую-
двоения хромосом
появления в хромо-
одновременно с по-
при неравном кро-
явления делеций.
ответствующий це-
она может быть
участок последов-
вторым продуктом
явлению аллеля
гаптоглобина, был
место в этом а-
лелеем: в этом а-
место 249 (83)
ших 83 аминокис-
7-843



Ф и г. 45. Схема возникновения «триплицированного» аллеля $Hpr^J(FFS)$ и нормального аллеля Hpr^{IS} при неравном кроссинговере между аллелями гаптоглобина у гомозиготы $Hpr^{2(FS)} Hpr^{2(FS)}$. Крестиком обозначен участок кроссинговера.

жет образоваться новый «триплицированный» аллель и обычный Hpr^1 -аллель [588]. Такой «триплицированный» аллель должен кодировать цепь $hr \alpha$, почти в три раза превышающую по размерам цепи $hr 1F\alpha$ или $hr 1S\alpha$. Действительно, был обнаружен крайне необычный тип гаптоглобина (так называемый фенотип «Джонсон»), из которого была выделена полипептидная цепь именно такого размера [140]. Хотя структура этого удлиненного полипептида в деталях пока неизвестна, вполне вероятно, что он представляет собой продукт «триплицированного» аллеля гаптоглобина, который мог случайно возникнуть в результате неравного кроссинговера при генотипе $Hpr^2 Hpr^2$.

IV. ДЕЛЕЦИИ

Некоторые мутации могут выражаться в утрате части хромосомы или хроматиды (делеция). Эта аномалия может затем передаваться последующим поколениям за счет обычного процесса удвоения хромосомы. Делеции могут возникать либо в результате появления в хромосомах или хроматидах двух или более разрывов одновременно с последующим aberrантным воссоединением, либо при неравном кроссинговере. Возможны и другие механизмы появления делеций. Делеция может захватывать участок ДНК, соответствующий целой серии генов, однако в некоторых случаях она может быть значительно менее обширной, включая какой-то участок последовательности в пределах одного гена. Например, вторым продуктом мутации, которая первоначально привела к появлению аллеля Hpr^2 (см. выше), соответствующего локусу α -цепи гаптоглобина, был, вероятно, аллель гаптоглобина с частичной делецией: в этом аллеле сохранилось 72 пары оснований (24×3) вместо 249 (83×3) в исходных аллелях Hpr^1F и Hpr^1S , кодировавших 83 аминокислоты.

Можно ожидать, что мутантный аллель с делецией части его нуклеотидной последовательности в большинстве случаев должен кодировать аномальный полипептид с весьма необычной структурой. Характер аномалии будет зависеть не просто от общей длины утраченного участка, но конкретно от точного числа пар оснований, захваченных делецией. Если число утраченных оснований равно или кратно трем, то в полипептидной цепи, определяемой мутантным аллелем, будет отсутствовать ряд аминокислот, кодируемых утраченной нуклеотидной последовательностью. Иначе говоря, последовательность аминокислот, расположенная до делеции, будет идентична последовательности соответствующей нормальной полипептидной цепи, а к ней будет непосредственно примыкать последовательность аминокислот, занимающая в норме дистальное положение по отношению к утраченному сегменту. Если же число утраченных пар оснований не равно или не кратно трем, то изменение структуры полипептида окажется гораздо серьезнее. Дело в том, что при трансляции последовательности пар оснований нуклеиновой кислоты в соответствующую последовательность аминокислот полипептидной цепи основания считаются по три, и если число утраченных оснований не кратно трем, то все последующее считывание будет неправильным и содержание кода совершенно изменится. В результате продуктом аномального аллеля будет полипептид, у которого только часть аминокислотной последовательности (проксимальная по отношению к началу утраченного сегмента) идентична последовательности исходного полипептида. Такие мутации называют мутациями со сдвигом считывания или мутациями со сдвигом рамки.

Хотя в принципе в результате различных мутаций может возникать множество аллелей с частичной делецией, очень мало вероятно, что определяемые ими полипептидные структуры дадут начало жизнеспособным белкам, которые удастся так или иначе обнаружить. Если белок при этом вообще образуется, то он должен быть, как правило, крайне нестабильным и функционально неактивным. Только у очень небольшой части мутантов такого типа можно надеяться найти аномальный белковый продукт. Тем не менее удалось обнаружить некоторые варианты гемоглобина со структурной аномалией, характер которой свидетельствует о том, что они определяются мутантными аллелями с частичной делецией.

Один из примеров такого рода вариантов — Нв-Фрейбург, у которого утерян один-единственный аминокислотный остаток [309]. Это остаток валина, в норме присутствующий в положении 23 β -цепи. В остальном β -цепь, не говоря уже об α -цепи, по-видимому, ничем не отличается от нормальных цепей. Этот аномальный гемоглобин был обнаружен у женщины с легкой формой гемолитической анемии, а также у двоих из ее детей, но отсутствовал у ее родителей и у трех ее братьев. У всех индивидуумов, у которых

был обнаружен этот гемоглобин, он присутствовал совместно с нормальным HbA. Следовательно, и мать и те из ее детей, в крови которых присутствовал аномальный гемоглобин, были гетерозиготны по редкому аллелю β -локуса, который, вероятно, появился впервые в половых клетках одного из ее родителей. Эта мутация, очевидно, выражается в делеции трех последовательных пар оснований, составляющих триплет, который кодирует валин в положении 23 β -полипептидной цепи.

Другой пример — Hb-Ган-Хилл [75, 524], в котором аномалия также обнаружена в β -цепи, но выражается она в утрате 5 аминокислотных остатков. Точно установить положение делеции пока не удалось; по-видимому, делеция захватила остатки 91... 95, 92... 96 или же 93... 97 нормальной β -цепи. Этот аномальный гемоглобин был обнаружен вместе с нормальным HbA у взрослого человека с длительной хронической гемолитической анемией, а также у его дочери. По-видимому, оба они гетерозиготны по редкому аллелю β -локуса, у которого утрачено 15 пар оснований, расположенных подряд.

Как Hb-Фрейбург, так и Hb-Ган-Хилл принадлежат к классу «нестабильных» гемоглобинов (стр. 37); их пониженная стабильность, вероятно, является следствием нарушения трехмерной конформации белка из-за утери аминокислот. О нарушении трехмерной структуры свидетельствуют также другие факты. Так, спектр поглощения метгемоглобина Hb-Фрейбург существенно отличается от спектров метгемоглобина A, а также любых обнаруженных до сих пор метгемоглобинов HbM (стр. 36). Хотя утраченная аминокислота (β 23) расположена, по-видимому, не слишком близко к гемогруппе в трехмерной полипептидной цепи, тем не менее эта делеция, вероятно, влияет на структуру цепи таким образом, что изменяется взаимодействие гем — глобин. Кроме того, у гетерозигот с этой аномалией отмечается постоянный, хотя и слабо выраженный цианоз вследствие метгемоглобинемии; вероятно, железо в геме, связанном с аномальными β -цепями, после того как оно окислилось, восстанавливается значительно труднее, чем в нормальном гемоглобине.

В Hb-Ган-Хилл обе гемогруппы, связанные с β -цепями, утрачены, так что в функциональном отношении белок совершенно аномален. Этот гемоглобин утратил 5 аминокислот в участке (β 90... 97), расположенном в норме близко к гемогруппе. Вероятно, именно из-за отсутствия этих аминокислот гем не может прочно связываться с полипептидной цепью.

V. ДВА АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕЩЕНИЯ В ОДНОЙ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ

Хотя мутация — событие редкое, возможна ситуация, когда в одном аллеле случайно возникает сразу 2 независимые мутации.

Тогда оба эти изменения должны отразиться в структуре кодируемого полипептида.

В качестве примера можно привести редкий вариант гемоглобина Hb-Гарлем [65], первоначально обнаруженный вместе с нормальным HbA у здорового негра. Этот человек был, по-видимому, гетерозиготен по аномальному гену β -локуса и по нормальному β -аллелю, поскольку в эритроцитах помимо вариантного гемоглобина содержался также HbA, и у шестерых из девяти его детей отмечалась такая же комбинация гемоглобинов. В β -цепи этого вариантного гемоглобина в положении 6 вместо глутаминовой кислоты стоит валин, так же как в гемоглобине серповидных клеток, и, кроме того, в положении 73 аспарагиновая кислота замещена на аспарагин, как в другом редком варианте гемоглобина, Hb-Корле-Бу [349]. Структуру HbC-Гарлем можно записать следующим образом: $\alpha_2\beta_2^{6\text{Глу}\rightarrow\text{Вал}, 73\text{Асп}\rightarrow\text{Асн}}$. Как и у гетерозигот по гену серповидноклеточности, у индивидуумов с HbC-Гарлем и HbA отмечается серповидноклеточность. Кроме того, этот вариант гемоглобина, как и HbS, плохо растворим в восстановленной форме.

Маловероятно, что аллель, кодирующий необычную β -полипептидную цепь в HbC-Гарлем, возник в результате одной мутации, вызвавшей изменение двух удаленных друг от друга оснований нуклеотидной последовательности гена. По-видимому, этот аллель представляет собой продукт двух совершенно различных мутаций, произошедших у разных индивидуумов, живших в разное время. Поскольку аллель серповидноклеточности часто встречается у негров, изменение в положении 6 β -цепи, вероятно, произошло раньше, чем вторая мутация.

Интересно отметить, что независимые мутационные изменения в одном аллеле могли возникнуть двумя несколькими различающимися способами. Аллель HbC-Гарлем мог появиться у индивидуума, у которого в одной хромосоме присутствовал аллель серповидноклеточности, а в другой — нормальный β -аллель; в этом случае мутация должна была захватить триплет № 73 аллеля серповидноклеточности. Он мог возникнуть также у индивидуума, несшего аллель, определяющий HbS ($\alpha_2\beta_2^{6\text{Глу}\rightarrow\text{Вал}}$), в одной хромосоме и аллель, определяющий Hb-Корле-Бу ($\alpha_2\beta_2^{73\text{Асп}\rightarrow\text{Асн}}$), — в другой; в этом случае должен был произойти кроссинговер между триплетом № 6 и триплетом № 73 при нормальной конъюгации хромосом в мейозе. Такой кроссинговер вызвал бы появление двух рекомбинантных продуктов — одного, кодирующего аномальную β -цепь HbC-Гарлем, и другого, кодирующего нормальную β -цепь.

ИЗМЕН

1. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ Р
И ДРУГИХ БЕЛКОВ

Генотип не тол
жества различных
синтезировать дан
ляцию скорости их
регуляторных фу
неясен.

Некоторые про
за, можно рассмо
мальных людей. Э
личества определ
образуется в други
ют, во всех этих
Мы вправе задать
бина активны, тог
на. Даже среди к
хорошо заметные
и δ -локусы. Одна
превышает скорост
синтезируются пре
ко незначителен, ч
тых синтезируется
меньшей, чем скор
ношение скорости
моглобина.

Аналогичная
ферментных белк
тканей организма
одинаковы во вс
значительно бол
активности хар
тканей. Известно
нейные ферменты
шейся скорости
в различных тка

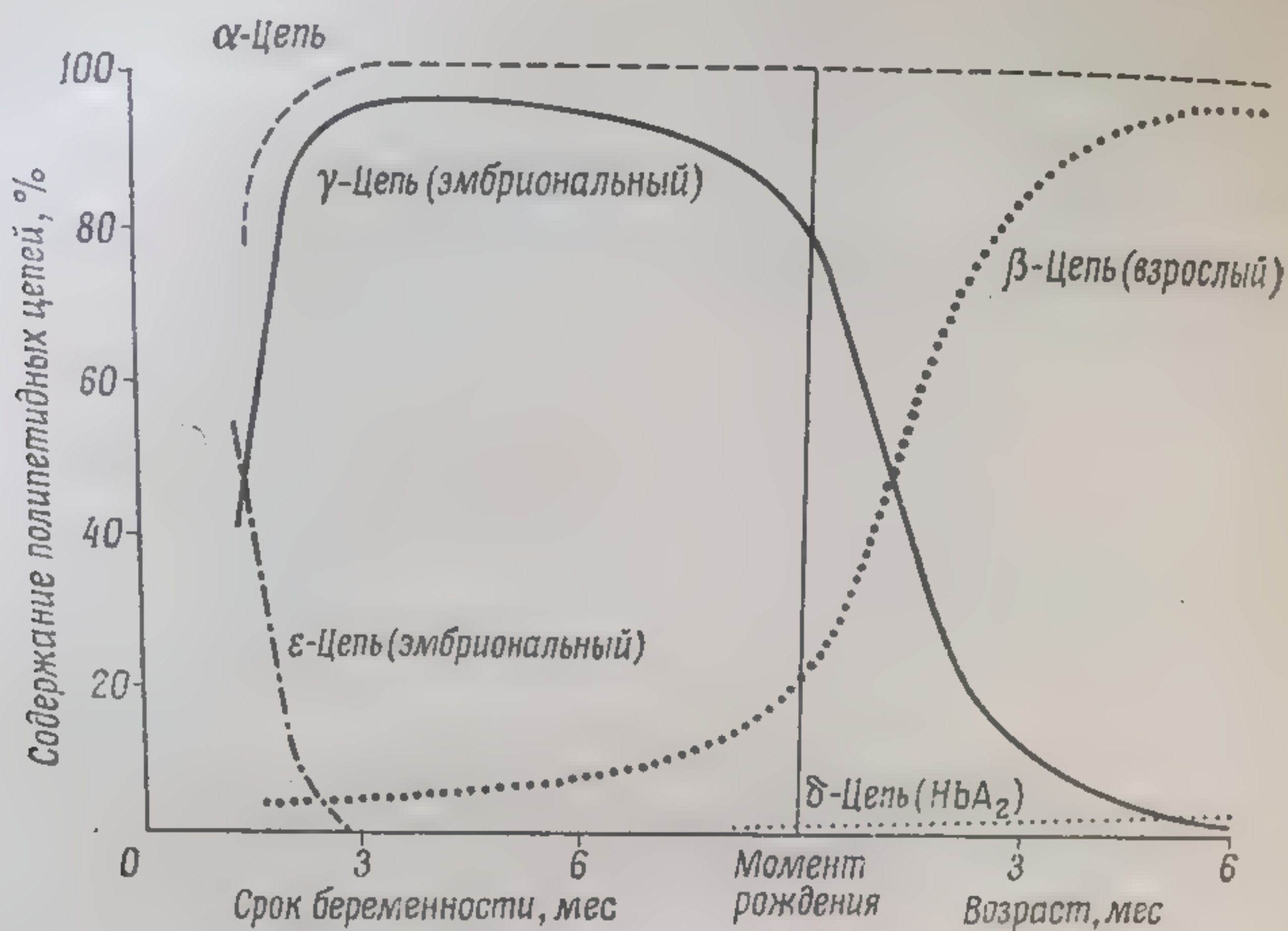
ГЕННЫЕ МУТАЦИИ, ИЗМЕНЯЮЩИЕ СКОРОСТЬ СИНТЕЗА БЕЛКА

1. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ФЕРМЕНТОВ И ДРУГИХ БЕЛКОВ

Генотип не только определяет первичную структуру всего множества различных ферментов и других белков, которые способен синтезировать данный индивидуум, но осуществляет также регуляцию скорости их синтеза. Однако механизм, лежащий в основе регуляторных функций у высших организмов, все еще очень неясен.

Некоторые проблемы, связанные с регуляцией белкового синтеза, можно рассмотреть на примере синтеза гемоглобина у нормальных людей. Этот белок образуется в весьма значительных количествах определенными эритропоэтическими клетками, но не образуется в других клетках организма. Между тем, как полагают, во всех этих клетках содержится одинаковый набор генов. Мы вправе задать вопрос, почему в одних клетках гены гемоглобина активны, тогда как в других активность этих генов подавлена. Даже среди клеток, синтезирующих гемоглобин, наблюдаются хорошо заметные различия. Все они, по-видимому, имеют β -, γ - и δ -локусы. Однако у плода скорость синтеза γ -цепи значительно превышает скорость синтеза β -цепи, тогда как у взрослых людей синтезируются преимущественно β -цепи, синтез же γ -цепи настолько незначителен, что его трудно обнаружить. Кроме того, у взрослых синтезируется δ -цепь со скоростью, примерно в сорок раз меньшей, чем скорость синтеза β -цепи. На фиг. 46 показано соотношение скоростей синтеза различных полипептидных цепей гемоглобина.

Аналогичная проблема возникает в связи с распределением ферментных белков. Некоторые ферменты находят в большинстве тканей организма, причем их белковые компоненты, по-видимому, одинаковы во всех клетках. Распространение других ферментов значительно более ограничено. Некоторые типы ферментативной активности характерны только для какой-то одной или немногих тканей. Известно также много случаев, когда широко распространенные ферменты образуются в разных тканях с заметно отличающейся скоростью. Далее, одну и ту же метаболическую функцию в различных тканях могут выполнять отличные по структуре фор-



Ф и г. 46. Синтез α -, β -, γ -, δ - и ϵ -цепей гемоглобина у плода и на ранних стадиях постнатальной жизни [275].

мы ферментов (изоферменты). Например, фосфорилаза печени отличается по своей структуре от фосфорилазы мышц, причем генная мутация может изменять одну из них, не влияя на структуру другой. Однако обе фосфорилазы участвуют в деградации гликогена одинаковым образом. Точно так же альдолаза или пируваткиназа в разных тканях различаются по своей структуре, и мутация, затрагивающая одну из форм, может никак не отразиться на другой. Еще один пример — существование различных изоферментов лактатдегидрогеназы, специфичных для той или иной ткани (гл. II).

Все эти факты, быть может, не слишком удивительны, поскольку они отражают дифференцировку тканей многоклеточного организма. Итак, каждая клетка способна синтезировать вполне характерные ферментные и другие белки, что составляет лишь часть всего набора белков целого организма. Поскольку все клетки одного индивидуума (разумеется, речь идет о клетках, имеющих ядра; они составляют подавляющее большинство клеток организма) за исключением гамет имеют одинаковый набор генов, приходится предположить, что в каждой клетке активность большинства генов постоянно подавлена.

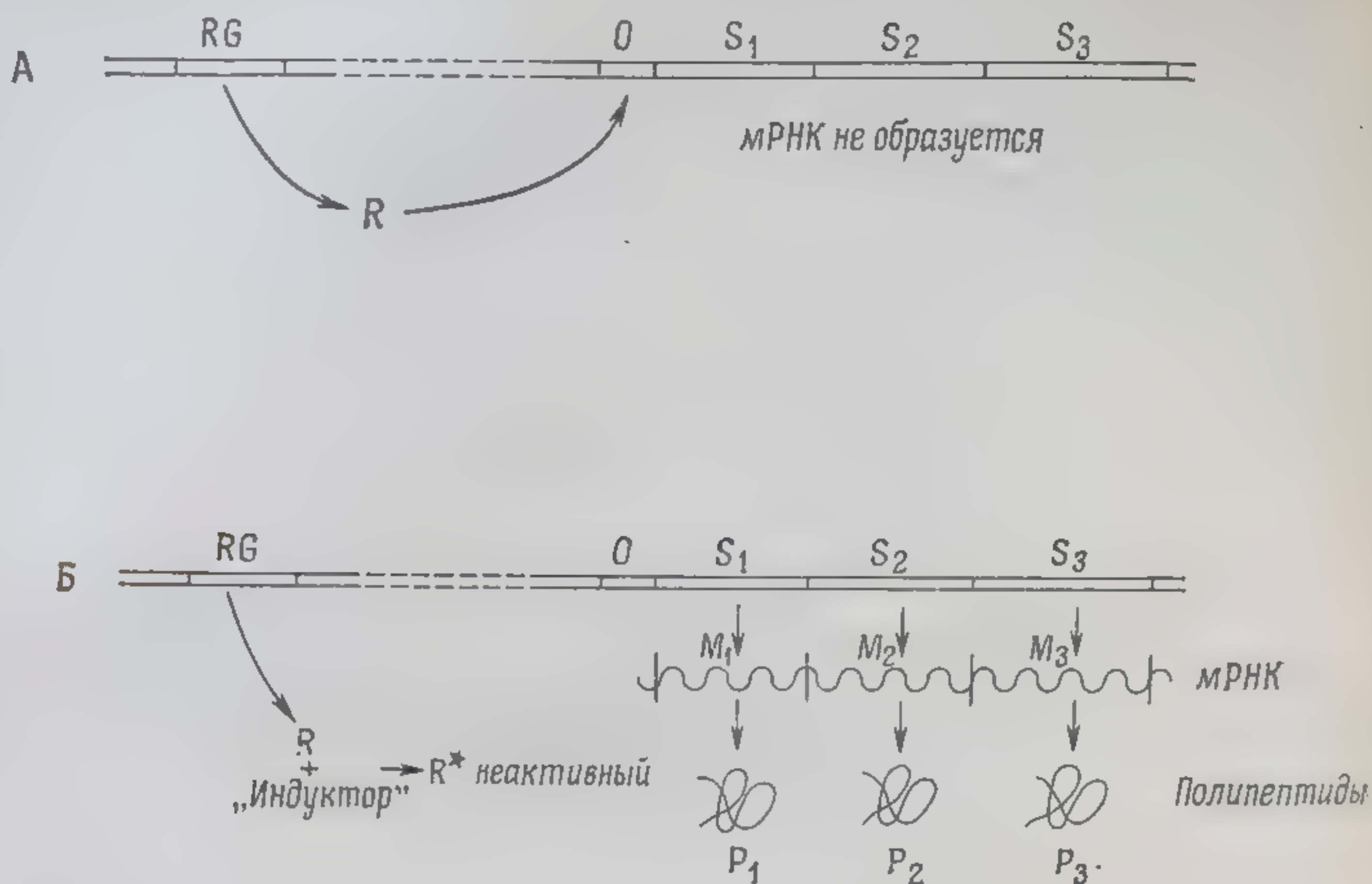
Таким образом, проблему генетической регуляции синтеза белка следует рассматривать как часть более широкой проблемы эмбриогенеза и дифференцировки. До сих пор удовлетворительной общей теории, адекватно объясняющей эти процессы, не существует.

II. СТРУКТУРНЫЕ ГЕНЫ И ГЕНЫ-РЕГУЛЯТОРЫ

Наиболее известная гипотеза регуляции синтеза белка была выдвинута Жакобом и Моно [301], которые исследовали мутанты *E. coli* с измененным синтезом некоторых индуцируемых ферментов. Жакоб и Моно предположили, что все гены можно разделить на два главных класса в зависимости от функций, которые они выполняют при синтезе белка: *структурные* гены, определяющие первичные последовательности аминокислот в определенных белках, и *гены-регуляторы*; их функция состоит в регуляции скорости синтеза определенных белков в конкретных условиях внутриклеточной среды. Жакоб и Моно предположили, что структурные гены, определяющие аминокислотные последовательности белков со связанными метаболическими функциями, должны быть, как правило, тесно сцепленными в хромосоме. Являются ли эти гены функционально активными (т. е. образуют ли они информационную, или матричную РНК, сокращенно мРНК) или, напротив, их активность подавлена, зависит от состояния особого участка ДНК, называемого *оператором*, который локализуется на одном конце набора сцепленных структурных генов. Такая группа смежных структурных генов, находящихся под контролем единственного оператора, называется *опероном* и, согласно современным представлениям, ведет себя как единое целое при образовании мРНК (т. е. в процессе *транскрипции*). Гипотеза Жакоба и Моно постулирует, что состояние оператора и, следовательно, активность соответствующих структурных генов, контролируется особым веществом — репрессором, который является продуктом гена-регулятора.

Первоначально химическая природа постулируемого репрессора была не ясна. Однако позже было показано, что репрессоры различных структурных генов представляют собой белки [198, 504]. Таким образом, как гены-регуляторы, так и структурные гены кодируют аминокислотные последовательности специфических белков, и различие между ними определяется лишь функциональной ролью белков, которые они контролируют.

Взаимосвязь между всеми этими генетическими единицами иллюстрируется схемой, приведенной на фиг. 47. Буквами S_1 , S_2 и S_3 обозначены структурные локусы, нуклеотидные последовательности которых определяют аминокислотные последовательности полипептидных цепей P_1 , P_2 и P_3 ; M_1 , M_2 , M_3 — информационные РНК, образуемые, вероятно, в виде единой непрерывной полинуклеотидной цепи. O — оператор, расположенный непосредственно рядом с S_1 . Гены O , S_1 , S_2 и S_3 вместе составляют оперон; RG — ген-регулятор, продуктом которого является репрессорный белок R . Этот белок может специфически связываться с оператором O ; при этом активность структурных генов по всей длине оперона репрессируется. Кроме того, он способен образовывать комплексы с некото-



Ф и г. 47. Регуляция активности структурного гена по Жакобу и Моно.
А — репрессия структурного гена; Б — дерепрессия структурного гена.

рыми малыми молекулами (так называемыми *индукторами*), которые могут присутствовать во внутриклеточной среде. При образовании комплекса с индуктором конфигурация репрессорного белка R меняется таким образом, что он утрачивает способность взаимодействовать с оператором, и активность структурных генов проявляется беспрепятственно. Таким образом, присутствие определенных метаболитов, образующих специфические комплексы с белком R , влияет на синтез всех полипептидов (P_1 , P_2 и P_3), кодируемых структурными генами оперона. В отсутствие такого метаболита активность структурных генов подавлена (*репрессия*). Напротив, в присутствии этого метаболита структурные гены проявляют большую или меньшую активность в зависимости от его концентрации и родства к белку R .

Мутация в каком-либо структурном локусе (скажем, S_2) обычно влияет только на синтез соответствующей полипептидной цепи (P_2), изменяя ее структуру, например вызывая замещение одной аминокислоты. В то же время мутация в локусе регулятора должна влиять на *скорость синтеза* всех полипептидов, определяемых структурными генами данного оперона, но не на их структуру. Такая мутация может выражаться в таком изменении репрессорного белка R , при котором он окажется неспособным взаимодействовать с оператором; при этом будет происходить постоянный и неконтролируемый синтез полипептидов P_1 , P_2 и P_3 , независимый от изменений внутриклеточной среды. Возможна также му-

тация гена-регулятора, при которой изменившийся белок R не сможет больше образовывать комплекс с молекулой метаболита-индуктора, но сохранит способность воздействовать на оператор. При этом будет наблюдаться постоянная репрессия синтеза полипептидов. Можно себе представить также мутации оператора. Мутации оператора могут вызывать либо постоянную реессию, либо постоянную активацию структурных генов независимо от того, присутствует ли репрессор R в активном состоянии или нет. Важным следствием описанной схемы является то, что у гетерозигот мутация оператора должна изменять активность только тесно сцепленных структурных локусов, расположенных в одной и той же хромосоме, тогда как наличие мутантного гена-регулятора у гетерозигот должно одинаково сказываться на активности структурных генов в обеих гомологичных хромосомах.

С тех пор как Жакоб и Моно предложили свою общую схему регуляции синтеза ферментных и других белков, было выполнено множество работ, главным образом на различных ферментных системах микроорганизмов, результаты которых подтвердили ее основные положения. Однако данных, касающихся высших организмов, до сих пор еще очень мало. В частности, фактически отсутствуют данные, которые доказывали бы существование у млекопитающих и у человека регуляторных и операторных локусов, близких к тем, которые постулировали в своей гипотезе Жакоб и Моно. Однако совершенно ясно, что у высших организмов должен существовать какой-то механизм весьма точного генетического контроля скорости синтеза ферментов и других белков.

У человека обнаружено множество разнообразных наследственных аномалий, в том числе специфические дефекты определенных ферментов и других белков. Неоднократно выдвигалось предположение, что многие из них должны быть обусловлены мутациями генов-регуляторов или генов-операторов. Последующие исследования показали, что в некоторых случаях на самом деле наблюдаются аномалии структуры белка и, следовательно, мутация должна изменять не оператор или регулятор, а структурный ген белка (как это, например, имеет место при акаталазии [4]). В других же случаях имеющихся данных недостаточно для того, чтобы сделать обоснованный выбор между различными предположениями.

III. СКОРОСТЬ СИНТЕЗА ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ И СТРУКТУРА ГЕНОВ

В связи с общей проблемой генетического контроля скорости синтеза специфических белков необходимо рассмотреть еще одну возможность, которая состоит в следующем: нуклеотидная последовательность данного структурного гена помимо того, что она кодирует аминокислотную последовательность полипептидной це-

пи, может в какой-то мере определять скорость синтеза цепи [71, 296—298].

При синтезе специфической полипептидной цепи участок ДНК, кодирующий ее аминокислотную последовательность, сначала транскрибируется в соответствующую цепь мРНК. Прикрепляясь к рибосомам, мРНК функционирует как матрица для синтеза полипептидной цепи, последовательно связывая молекулы тРНК, несущие активированные аминокислоты. Общая скорость синтеза специфического белка зависит от скоростей этих различных стадий, а также, разумеется, от скоростей последующих стадий, необходимых для завершения формирования белковой молекулы. Так, общая скорость синтеза белка может лимитироваться скоростью образования мРНК, ее стабильностью, скоростью ее присоединения к рибосомам и освобождения с рибосом, скоростью инициации связывания тРНК и скоростью последовательного связывания молекул тРНК, несущих соответствующие аминокислоты, с триплетами оснований мРНК, скоростью освобождения завершенных полипептидных цепей с рибосом и скоростью взаимодействия упакованных полипептидов с другими полипептидами в случае мультимерных белков. Скорость образования мРНК, ее стабильность, а также связывание с рибосомами и освобождение с них может зависеть от ее точной нуклеотидной последовательности, которая в свою очередь определяется нуклеотидной последовательностью данного структурного гена. Кроме того, скорость образования полипептидной цепи на рибосомах может зависеть от специфической последовательности мРНК или от доступности различных молекул тРНК, необходимых для сборки полипептидной цепи. Далее, последовательность аминокислот в полипептиде может влиять на скорость укладки полипептидной цепи, по мере ее сборки, с образованием определенной конформации, а также, возможно, и на скорость освобождения полипептида с рибосом. Наконец, структура полипептида может влиять на скорость связывания с другими полипептидами или с простетическими группами с образованием конечного белкового продукта. Таким образом, специфическая нуклеотидная последовательность каждого структурного гена или генов может разными способами и на разных уровнях влиять на скорость синтеза данного белка.

Для обнаружения такого влияния полезно провести анализ гетерозигот по мутантным структурным генам. Известны, например, случаи, когда у гетерозигот два полипептидных продукта синтезируются в разных количествах. Было высказано предположение, что иногда это может быть следствием различий в скорости синтеза этих цепей, обусловленных различиями нуклеотидных последовательностей соответствующих аллелей. Иллюстрируем сказанное на примере гетерозигот по гену серповидноклеточности, а также гетерозигот по гену гемоглобина С. Известно, что у носителей гена серповидноклеточности в эритроцитах содержится больше

HbA, чем HbS. В среднем около 60... 65% имеющегося гемоглобина составляет HbA ($\alpha_2\beta_2$) и около 35... 40% приходится на долю HbS ($\alpha_2\beta_2^{6 \text{ Глу} \rightarrow \text{Вал}}$) [680, 698]. Сходная диспропорция наблюдается у носителей гена гемоглобина С: здесь опять-таки количество HbA значительно больше, чем HbC. Общее количество гемоглобина у гетерозигот обоих типов в среднем не отличается заметно от количества гемоглобина у нормальных гомозигот. Далее, хотя варианты гемоглобины и HbA, быть может, несколько различаются по своей стабильности, тем не менее эти различия, по-видимому, слишком малы, чтобы мы были вправе объяснить наблюдаемую картину преимущественным распадом вариантного гемоглобина. Вероятно, в этих случаях характерная диспропорция в содержании двух гемоглобинов у гетерозигот обусловлена различиями в скорости синтеза [71, 297]. Таким образом, скорость синтеза полипептидной цепи $\beta^{6 \text{ Глу} \rightarrow \text{Вал}}$ у носителей серповидноклеточности или полипептидной цепи $\beta^{6 \text{ Глу} \rightarrow \text{Лиз}}$ у людей с гемоглобином С значительно меньше, чем скорость синтеза нормальной β -цепи. В каждом из этих случаев мутация, вызывая замену одного основания, изменяет нуклеотидную последовательность мРНК и, далее, аминокислотную последовательность соответствующего полипептида, в котором происходит замена одной-единственной аминокислоты. Теоретически любое из этих изменений может ограничивать общую скорость синтеза по сравнению со скоростью синтеза нормального полипептида. Однако точная природа предполагаемых взаимоотношений между структурой генов и скоростью синтеза полипептидных цепей в описанных случаях остается неясной.

Подобная зависимость скорости синтеза белка от структуры гена может иметь место не только при синтезе вариантных полипептидов, определяемых мутантными или аномальными генами, но также в случае так называемых нормальных аллелей. В самом деле, вполне возможно, что в любом гене присутствует один или даже несколько триплетов, накладывающих ограничения на некоторые стадии синтеза полипептидных цепей и, следовательно, ограничивающих общую скорость синтеза данного белка. Уместно вспомнить, что некоторые аминокислоты кодируются несколькими триплетами мРНК и им соответствуют разные тРНК. Итак, триплет, кодирующий определенную аминокислоту, а также доступность соответствующей тРНК в клетке могут в значительной мере определять общую скорость синтеза полипептида. Интересный случай явного неравенства скоростей сборки двух полипептидных цепей, определяемых разными локусами, можно наблюдать на примере β - и δ -цепей гемоглобина [691]. Эти цепи различаются только по 10 аминокислотам, так что соответствующие гены должны быть очень сходными. Однако в норме скорость сборки β -цепей значительно превосходит скорость сборки δ -цепей, хотя точные причины этого неизвестны.

Каков бы ни был механизм, определяющий описанные различия, идея, согласно которой ген по самой природе своей нуклеотидной последовательности может осуществлять контроль скорости синтеза кодируемого полипептида, очень важна. Она позволяет в принципе объяснить многие случаи характерных различий в содержании различных ферментов и других белков в одной клетке.

IV. НАСЛЕДУЕМЫЕ НАРУШЕНИЯ СКОРОСТИ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА — ТАЛАССЕМИИ

Известны многочисленные наследуемые аномалии, при которых главный дефект состоит в недостатке определенного белка. Многие из этих аномалий возникают в результате мутаций, выражающихся в значительном, но специфичном снижении скорости синтеза одной или нескольких полипептидных цепей. Лучшее всего изучены дефекты синтеза гемоглобина, в частности ряд хронических гемолитических анемий, известных под общим названием талассемий. По-видимому, они определяются разными аномальными генами в различных гетерозиготных и гомозиготных комбинациях. Однако точная природа таких мутаций и механизмов возникновения наблюдаемых дефектов синтеза гемоглобина до сих пор не выяснена. Талассемии, видимо, представляют собой частный случай аномалий, составляющих целый класс близких болезней обмена, связанных со специфическими нарушениями скорости синтеза разнообразных белков, в том числе ферментов. Поэтому проблемы и трудности, возникающие при исследовании талассемий, представляют некоторый общий интерес.

Обычно талассемии классифицируют в зависимости от того, какая из полипептидных цепей синтезируется с уменьшенной скоростью, определяя тем самым дефицит гемоглобина [292]. Например, при так называемых β -талассемиях нарушен главным образом синтез β -цепи, тогда как при α -талассемиях в первую очередь затрагивается синтез α -цепи.

Опубликованы детальные обзоры различных случаев талассемии [448, 674, 675].

1. β -Талассемия

β -Талассемия довольно сильно распространена в некоторых средиземноморских странах (например, в южной Италии и в Греции), а также во многих районах Индии и Дальнего Востока. Вероятно, этот тип анемии связан с присутствием в популяции целого ряда различных мутантных генов; хотя все они подавляют синтез β -цепи, но степень снижения скорости синтеза, по-видимому, сильно варьирует от одного гена к другому. В некоторых случаях синтез β -цепи может подавляться полностью или почти пол-

генные мутации. В других случаях гомозиготная форма анемии проявляется в виде тяжелой формы, когда обычно синтез гемоглобина создает своего рода дефект костного мозга. Поэтому б-талассемия (или очень б-талассемия) в незначительном количестве или не продолжается непрерывно для того, чтобы к этому концентрации. Кроме того, в эритроцитах, (пойкилоцитоз и анемия). Исследования б-талассемии [29, 30] показывают, что синтез б-цепи сильно превосходит синтез а-полипептидов, и преципитируют, с чем очередь способности. Следовательно, б-талассемия, возникает бина, но также цитов. У гетерозигот (heterozygotes), которые имеют нормальную гемоглобину, наблюдается типичный кроцитоз, анизотропное увеличение 2... 3% [355]. Скорость синтеза б-цепи может быть несколько раз выше, чем у эритроцитов. Гетерозиготы (heterozygotes) имеют нормальную гемоглобину.

ностью. В других случаях синтез β -цепи продолжается, но со значительно меньшей скоростью.

У гомозигот по таким аномальным генам наблюдается тяжелая форма анемии, *thalassemia major* (анемия Кули). Заболевание проявляется обычно вскоре после рождения, в тот период, когда обычно синтез γ -цепи уступает место синтезу β -цепи. Тяжелая анемия возникает из-за дефицита гемоглобина $A(\alpha_2\beta_2)$. Это создает своего рода «стресс-ситуацию» для эритроидного компонента костного мозга, и в результате за счет какого-то неизвестного механизма он начинает постоянно производить клетки, сохраняющие способность к синтезу эмбрионального гемоглобина $HbF(\alpha_2\gamma_2)$. Поэтому большая часть гемоглобина представлена HbF ; HbA (или очень близкий к нему гемоглобин) присутствует лишь в незначительном количестве, а в самых тяжелых случаях он может полностью или почти полностью отсутствовать. Синтез γ -цепей продолжается непрерывно, однако обычно этого совершенно недостаточно для того, чтобы компенсировать дефицит β -цепей. Поэтому концентрация гемоглобина в эритроцитах заметно снижается. Кроме того, значительно понижено общее число циркулирующих эритроцитов, и они сильно различаются по форме и размерам (пойкилоцитоз и анизоцитоз).

Исследования кинетики синтеза глобина в эритроцитах при β -талассемии [29, 31, 276, 676] показали, что скорость образования β -цепи сильно уменьшена, причем синтез α -цепи значительно превосходит синтез β - и γ -цепей. Образуется большой избыток α -полипептидов, которые, очевидно, очень нестабильны и легко преципитируют, связываясь со стромой эритроцитов, что в свою очередь способствует преждевременному разрушению эритроцитов. Следовательно, тяжелая анемия, сопровождающая β -талассемию, возникает не только в связи с общим дефицитом гемоглобина, но также из-за увеличенной скорости деструкции эритроцитов.

У гетерозигот часто отмечается легкая форма анемии (*thalassemia minor*), которая весьма вариабельна по характеру течения, причем нередко встречаются стертые формы заболевания. Обычно наблюдаются типичные аномалии морфологии эритроцитов (микроцитоз, анизоцитоз, мишеневидные клетки). При этом большую часть гемоглобина составляет HbA , однако наблюдается характерное увеличение доли гемоглобина $A_2(\alpha_2\delta_2)$ до 4... 7% вместо 2... 3% [355]. Следовательно, синтез δ -цепи, по-видимому, протекает несколько интенсивнее обычного. Содержание HbF также может быть увеличено (0,5... 4% общего содержания гемоглобина), причем интересно, что он неравномерно распределен между эритроцитами.

Гетерозиготы по гену β -талассемии могут быть, кроме того, гетерозиготны по одному из генов, определяющих варианты гемоглобина с аномальной β -цепью, такие, как HbS , HbC или HbE .

В результате возникают сложные формы анемии: талассемия/HbS, талассемия/HbC и т. д. В таких случаях в эритроцитах преобладают варианты гемоглобины, их содержание достигает 70% (или более) всего имеющегося гемоглобина. По-видимому, в этих случаях синтез вариантной β -цепи (т. е. β^S , β^C или β^E) не подавлен, так что по относительному содержанию HbA можно до некоторой степени судить о степени подавления синтеза нормальной β -цепи, связанного с присутствием данного гена β -талассемии. В некоторых случаях нормальная β -цепь практически отсутствует.

Имеется две гипотезы относительно природы мутаций, вызывающих нарушение синтеза β -цепи, характерное для β -талассемии. Согласно одной из них, мутации происходят в структурном локусе, определяющем аминокислотную последовательность β -цепи. В этом случае гены β -талассемии должны быть аллельны генам, определяющим варианты β -цепи, такие, как HbS и HbC. Вторая гипотеза утверждает, что мутации затрагивают другой локус, который связан с регуляцией скорости синтеза β -цепи в норме.

Некоторые полезные сведения на этот счет удастся получить при обследовании семей, среди членов которых имеются двойные гетерозиготы (т. е. индивидуумы с талассемией/HbS или с талассемией/HbC). В настоящее время исследовано значительное число информативных семей такого типа [448, 675]; оказалось, что, за несколькими возможными исключениями, в подавляющем большинстве случаев дети, родители которых являются двойными гетерозиготами, получают от них либо ген β -талассемии, либо ген вариантной β -цепи, но не оба аномальных или оба нормальных гена сразу (табл. 8). Анализ родословных свидетельствует о том, что эти гены либо принадлежат к одному локусу (т. е. являются аллелями), либо если гены присутствуют в разных локусах, то они должны быть тесно сцеплены, а то и расположены непосредственно друг за другом в одной хромосоме. Поскольку в этих семьях родители, являющиеся двойными гетерозиготами, по-видимому, передают любому ребенку какой-либо один из аномальных генов, а не оба, мы можем заключить, что если имеются два раздельных локуса, то в каждом случае у двойных гетерозигот аномальные гены расположены в разных хромосомах пары (т. е. находятся в фазе отталкивания).

Однако имеющихся данных недостаточно, чтобы сделать обоснованный выбор между гипотезой аллелизма и альтернативной гипотезой, предполагающей существование двух отдельных, но тесно сцепленных локусов. Необходимо отметить, что при исследованиях такого рода приходится сталкиваться с значительными трудностями. Если степень сцепления достаточно велика, то для того, чтобы обнаружить кроссинговер, необходимо обследовать огромное число информативных семей; при этом, однако, результаты могут быть искажены из-за наличия в семьях внебрачных детей. Особые проблемы возникают в связи с вариабельностью про-

ТАБЛИЦА 8

Потомки от браков между непораженными индивидуумами (N) и индивидуумами, гетерозиготными по генам β -талассемии и вариантной β -цепи гемоглобина (дополнительные данные, полученные другими исследователями, суммированы в работах [448, 675])

Тип брака	Число браков	Потомство				всего	Источник данных
		предполагается кроссинговер		предполагается отсутствие кроссинговера			
		аномальный β Hb— β -талассемия	нормальный	гетерозиготы только по гену β -талассемии	гетерозиготы только по гену аномального гемоглобина		
HbS/ β -талассемия \times N	7	—	? 1	13	12	26	[100]
HbS/ β -талассемия \times N	6	—	—	7	11	18	[675]
HbC/ β -талассемия \times N	2	—	—	6	4	10	[675]
Всего	15	—	? 1	26	27	54	

явления генов β -талассемии и отсутствием надежного критерия наличия этих генов. Так, оказывается затруднительным четко различать гетерозиготы со стертыми формами талассемии и гомозиготы по нормальному аллелю. Кроме того, очень сложно, а в некоторых случаях, вероятно, и вовсе невозможно различить по фенотипу индивидуумов, гетерозиготных по гену β -талассемии, вызывающему сильное или даже полное подавление синтеза β -цепи, и двойных гетерозигот, у которых этот ген и ген, определяющий вариантную β -цепь, расположены в одной хромосоме (т. е. в фазе сцепления). Можно ожидать, что у таких двойных гетерозигот синтез вариантной β -цепи будет полностью или почти полностью подавлен, так что должна наблюдаться примерно та же картина, что и для индивидуума, гетерозиготного по гену β -талассемии [448]. Такова ситуация в случаях, когда встает вопрос о предполагаемом кроссинговере.

Если ген β -талассемии в действительности присутствует не в структурном локусе β -цепи, а в тесно сцепленном с ним локусе, тогда данные, полученные при исследовании двойных гетерозигот типа β -талассемия/HbS или β -талассемия/HbC, свидетельствуют о том, что ген β -талассемии может подавлять только активность структурного локуса β -цепи, расположенного в той же хромосоме. Это явствует из того факта, что у таких гетерозигот скорость синтеза вариантной β -цепи (т. е. HbS или HbC), по-видимому, не изменена. В таком случае locus β -талассемии может соответствовать оператору Жакоба и Моно, который контролирует активность соседнего структурного гена β -цепи. Поскольку при β -талассемии синтез δ -цепи не репрессирован, следует предположить, что тесно сцепленные структурные локусы δ - и β -цепей не находятся под контролем одного и того же оператора и, следовательно, не составляют единого оперона.

С другой стороны, если гены β -талассемии возникли в результате мутации в одном локусе, определяющем структуру β -цепи, то встает вопрос, каков в этом случае механизм подавления синтеза β -полипептида. Теоретически такое подавление могло бы достигаться за счет изменения нуклеотидной последовательности структурного гена, поскольку при этом накладывается жесткое ограничение на скорость какой-либо одной из стадий нормальных процессов транскрипции и трансляции, приводящих к окончательному формированию полипептида и его включению в молекулу гемоглобина (см. выше, разд. III). При попытках идентификации таких аномалий мы сталкиваемся с чрезвычайно сложными техническими проблемами, которые по большей части еще не решены; впрочем, уже сейчас получены некоторые наводящие на размышления результаты [84, 104]. Кроме того, различные мутации β -гена могут влиять на процесс синтеза разными путями, давая одинаковый конечный эффект, который выражается в резком снижении скорости синтеза β -цепи или в его полной остановке.

2. Генетически обусловленное сохранение эмбрионального гемоглобина у взрослых людей

Интересно сопоставить действие генов β -талассемии с эффектом другой мутации, вызывающей полное подавление синтеза β -цепи. Речь идет о мутантном гене, обычно называемом геном «высокого содержания HbF», который вызывает появление особой аномалии — генетически обусловленного сохранения эмбрионального гемоглобина ($\alpha_2\gamma_2$). При обследованиях семей выяснилось, что этот ген присутствует в локусе, который подобно локусу β -талассемии либо тесно сцеплен со структурным локусом β -цепи, либо идентичен ему. Ген «высокого содержания HbF» встречается главным образом у жителей Африки или у выходцев из Африки.

У взрослых гетерозигот по этому гену, несущих мутантный и нормальный аллель [107], около 25% всего гемоглобина приходится на долю HbF ($\alpha_2\gamma_2$), а остальное — на долю HbA, причем общее содержание гемоглобина у таких гетерозигот не отличается от нормы; обнаруживается также некоторое количество HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$), однако его количество несколько ниже, чем в норме. Видимо, у таких гетерозигот синтез δ -цепи подавлен, в отличие от того, что наблюдается у гетерозигот по гену β -талассемии, у которых содержание HbA₂, как правило, увеличено. Другое отличие, помимо значительно более высокого содержания HbF, состоит в том, что HbF равномерно распределен между эритроцитами, тогда как у гетерозигот по гену β -талассемии его распределение крайне неравномерно.

У гомозигот по гену «высокого содержания HbF» синтезируется только HbF [27, 685]. Как HbA, так и HbA₂ у них отсутствуют; тем не менее компенсация за счет синтеза HbF, по-видимому, оказывается вполне достаточной, поскольку тяжелые формы анемии у таких индивидуумов не развиваются.

Обнаружены индивидуумы, гетерозиготные по гену «высокого содержания HbF» и, кроме того, гетерозиготные по одному из генов, определяющих варианты β -цепи, такие, как β^S или β^C [148, 406]. В эритроцитах таких индивидуумов присутствуют только соответствующий вариантный гемоглобин и HbF и не содержится ни HbA, ни HbA₂.

Таким образом аномалия, развивающаяся при наличии гена «высокого содержания HbF», очевидно, заключается в полном подавлении синтеза как β -, так и δ -цепей при продолжающемся синтезе γ -цепей, который более или менее полно компенсирует отсутствие β - и δ -полипептидов. Эта ситуация резко отличается от картины, наблюдаемой при β -талассемии. При наличии генов β -талассемии обычно подавляется только синтез β -, но не δ -цепей; при этом хотя компенсаторный синтез γ -цепей и происходит, он оказывается значительно менее эффективным, что приводит к возникновению тяжелых анемий.

Природа мутации, вызвавшей появление гена «высокого содержания HbF», неизвестна. Согласно одной из гипотез, в данном случае должна была произойти мутация оператора, контролирующего структурные гены как β -, так и δ -цепей и, кроме того, каким-то образом участвующего также в переключении синтеза γ -цепей на синтез β -цепей в процессе нормального развития. Если это предположение справедливо, тогда структурные локусы β - и δ -цепей должны составлять части единого оперона. В свете этого заключения гипотеза о том, что β -талассемия возникает как следствие мутации оператора, контролирующего синтез β -цепи, но не δ -цепи, представляется менее правдоподобной. Согласно другой гипотезе, так называемый ген «высокого содержания HbF» в действительности есть не что иное, как делеция или хромосомная перестройка, затрагивающая структурные локусы как β -, так и δ -цепей и приводящая к полной утрате их активности.

3. Другие аномальные гены, влияющие на синтез β - и δ -цепей

Обнаружено значительное число других характерных наследственных аномалий синтеза β - и δ -цепей гемоглобина. Одна из них носит название $\beta\delta$ -, или $\delta\beta$ -талассемии [82, 106], или F-талассемии [448, 675]. По клиническим проявлениям она напоминает β -талассемию, но протекает несколько легче. При этом заболевании подавлен синтез как β -, так и δ -цепей, однако компенсаторный синтез γ -цепей значительно более эффективен, чем при β -талассемии, хотя он и не полностью компенсирует дефицит β -цепей.

Нарушение синтеза β - и δ -цепей отмечается также при особом заболевании, которое проявляется как несколько менее выраженная форма генетически обусловленного сохранения эмбрионального гемоглобина [169]. Оно довольно сильно распространено в Греции и носит название «греческой формы», в отличие от более выраженной формы, известной под названием «африканской». При этой аномалии синтез β - и δ -цепей выключен не полностью и протекает значительно медленнее, чем в норме. Синтез γ -цепей, напротив, идет гораздо интенсивнее и более или менее полно компенсирует дефицит β -цепей. Важное отличие этой аномалии от упомянутой выше $\beta\delta$ -талассемии состоит в том, что HbF у гетерозигот, хотя и содержится в среднем в тех же относительных количествах, равномерно распределен между циркулирующими эритроцитами, тогда как при $\beta\delta$ -талассемии HbF распределяется в эритроцитах крайне неравномерно (табл. 9).

Для объяснения этих аномалий были предложены различные гипотезы, сходные с гипотезами о происхождении β -талассемии и так называемой «африканской формы» генетически обусловленного сохранения HbF. Однако в настоящее время нет никаких надежных критериев для выбора между различными теоретически-

ТАБЛИЦА 9

Влияние различных мутаций Hb δ - β -комплекса на образование HbF ($\alpha_2\gamma_2$) у гетерозигот [448]

Аномалия		Влияние мутации на синтез HbF($\alpha_2\gamma_2$) у гетерозигот				Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах у гетерозигот
		синтез β -цепи	синтез δ -цепи	содержание HbF, % общего количества гемоглобина	распределение HbF в эритроцитах	
Талассемия	β -Талассемия	Подавление (степень подавления от низкой до высокой)	Усиление	Несколько увеличенное	Неравномерное	Низкое
	$\delta\beta$ -Талассемия	То же	Нормальное или незначительное подавление	3,5—36	Неравномерное	Низкое
Генетически обусловленное сохранение эмбрионального гемоглобина	Греческая форма	Умеренное подавление	Умеренное подавление	8—16	Равномерное	Нормальное
	Африканская форма	Полное подавление	Полное подавление	16—36	Равномерное	Нормальное

ми возможностями. Ясно, что эти аномалии обусловлены множеством самых разных мутаций, разными способами воздействующих на синтез β -, δ - и γ -цепей, однако точные механизмы этих дефектов остаются спорными. Можно полагать, что аналогичная сложность и гетерогенность характерна также для аномалий, связанных с нарушением скорости синтеза других белков.

4. α -Талассемия

Поскольку α -цепи содержатся не только в гемоглобине взрослых людей, но и в гемоглобине плода, мутации, вызывающие сильное подавление синтеза α -цепи, должны сказываться на развитии плода. Такие аномалии действительно были обнаружены. Пораженный плод сильно отекает (так называемая водянка плода); кроме того, наблюдается увеличение печени и другие нарушения [392, 500]. Нередки случаи внутриутробной смерти плода и самопроизвольные аборт на поздних сроках беременности. Почти весь гемоглобин, содержащийся в эритроцитах плода, имеет аномальную структуру. По-видимому, он представляет собой тетрамер, состоящий исключительно из нормальных γ -цепей, и его структуру можно обозначить γ_4 [283]. Этот аномальный гемоглобин обычно называют гемоглобином Барта [5]. Очевидно, синтез α -цепей подавлен почти полностью, тогда как синтез γ -цепей протекает нормально. Описанные нарушения являются результатом недостатка гемоглобина с одной стороны и аномального характера кривой диссоциации комплекса гемоглобин—кислород для гемоглобина Барта (γ_4) — с другой, вследствие чего кислород оказывается менее доступным для тканей.

Эту аномалию связывают с гомозиготностью по мутантному гену в локусе, кодирующем α -полипептидную цепь, или же в локусе, который каким-то образом контролирует ее синтез. Индивидуумы, несущие этот ген и его нормальный аллель, обычно здоровы, и в большинстве случаев отмечается слабо выраженная анемия [500]. В эритроцитах гетерозигот при рождении имеется небольшое количество гемоглобина γ_4 (5... 10% всего гемоглобина), который, однако, в течение последующих двух месяцев постнатального развития исчезает вместе с HbF ($\alpha_2\gamma_2$).

Другая аномалия, связанная с нарушением синтеза α -цепи, известна под названием анемии, обусловленной HbH [448, 675]. Заболевание это проявляется в форме обычно не очень тяжелой анемии с переменным течением, при которой 10... 30% имеющегося гемоглобина представлено необычной формой, HbH; остальной гемоглобин составляет HbA. Молекула HbH представляет собой тетрамер, целиком построенный из нормальных β -цепей (β_4) [283]. Он крайне нестабилен и вызывает появление в эритроцитах телец-включений, которые очень характерны для этой анемии. В немногих случаях удалось исследовать кровь из пуповины но-

ворожденных. у
ловленная HbH
около 25% гемо
шается при о
 β_4 . Таким обра
ный дефицит о
цепей у плода
дования семей
с анемией, обу
семии, который
да, и, кроме то
можно, аллелю
степени.

ворожденных, у которых впоследствии проявилась анемия, обусловленная HbH [501]. Оказалось, что на долю Hb- γ_4 приходится около 25% гемоглобина, причем его содержание постепенно уменьшается при одновременном увеличении содержания гемоглобина β_4 . Таким образом, по-видимому, в данном случае имеется частичный дефицит α -цепей, что приводит к относительному избытку γ -цепей у плода и β -цепей в постнатальный период. Данные обследования семей [500] позволили предположить, что индивидуумы с анемией, обусловленной HbH, гетерозиготны по гену α -талассемии, который в гомозиготном состоянии вызывает водянку плода, и, кроме того, гетерозиготны по какому-то другому гену (возможно, аллелю), подавляющему синтез α -цепи, хотя и в меньшей степени.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ И КАЧЕСТВЕННАЯ
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ1. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ВАРИАЦИИ
ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

Многие генные мутации проявляются в виде характерных изменений активности специфических ферментов. В одних случаях у гомозигот по мутантному гену определенный тип ферментативной активности полностью или почти полностью отсутствует. В других случаях уменьшение активности, вызываемое мутацией, менее значительно. Иногда — правда, очень редко — отмечается увеличение активности. Действительно, в результате различных мутаций, очевидно, может возникнуть почти любая степень изменения ферментативной активности.

Оценка таких изменений у различных индивидуумов основана в общем на количественных измерениях уровня ферментативной активности в экстрактах определенных клеток или тканей (например, эритроцитов, лейкоцитов, печени и т. д.). При рассмотрении значимости этих наблюдений необходимо учитывать, что измеряемый уровень активности фермента в клетках ткани является комплексным параметром. Он зависит, во-первых, от специфических каталитических свойств фермента, которые определяются тонкой молекулярной структурой ферментного белка, и, во-вторых, от количества ферментного белка, присутствующего в ткани, которое определяется интенсивностью двух противоположно направленных процессов: синтеза и распада белка. Наблюдаемая активность может зависеть, кроме того, от других факторов, таких, как наличие специфических ингибиторов, кофакторов, ионов металлов и т. д., а также от условий эксперимента по определению активности (например, от концентрации субстратов, pH среды и т. д.). Имеются и другие осложняющие факторы; к ним относятся локализация фермента или его связь с определенными клеточными структурами. Кроме того, результаты измерений могут зависеть от методов, используемых для разрушения клеток.

Очевидно, что мутантный ген может вызывать наблюдаемые изменения уровня ферментативной активности различными путями. Главные возможные способы рассмотрены ниже.

1. Мутационное изменение может привести к синтезу структурно измененного белка с дефектными или модифицированными

каталитическими свойствами. Например, замена одной аминокислоты, если она происходит в активном центре фермента, может сказаться на связывании субстратов или коферментов с белком при катализе и тем самым вызвать заметное изменение кинетики каталитического процесса, а следовательно, повлиять на определяемую активность фермента. При этом истинное количество присутствующего ферментного белка может не измениться, хотя ферментативная активность будет очень низкой или даже может полностью отсутствовать.

2. Продуктом мутантного гена может быть белок с измененной структурой, каталитическая активность которого существенно не изменяется, тогда как стабильность меньше, чем стабильность нормального фермента. В таком случае ферментный белок будет быстрее денатурировать *in vivo*, а время его полураспада соответственно уменьшится. Увеличение скорости распада приведет к тому, что истинное количество функционально активного ферментного белка и, следовательно, величина активности в любое данное время будет соответственно уменьшенной и может даже оказаться ниже того уровня, который вообще поддается определению.

3. Может быть изменена скорость синтеза ферментного белка — либо вследствие мутаций в так называемом структурном гене (или генах), кодирующем последовательность аминокислот в белке, либо в результате мутации гена, участвующего в регуляции активности такого структурного гена. Синтез ферментного белка может прекратиться или происходить с пониженной скоростью, так что его количество будет меньше, чем в норме. Иногда может происходить увеличение скорости синтеза; в результате будет наблюдаться увеличение ферментативной активности.

4. Влияние на определенный фермент может быть опосредованным. Мутация гена, в норме не имеющего отношения к контролю синтеза самого фермента, может тем не менее влиять на его активность, вызывая, например, изменение внутриклеточной концентрации некоторых активаторов или ингибиторов.

Некоторые из рассмотренных возможностей не являются взаимоисключающими, так что возможны случаи, когда мутация вызывает изменение ферментативной активности несколькими способами. Например, при замещении одной аминокислоты или при каком-либо другом структурном изменении ферментного белка может происходить изменение его кинетических свойств и, сверх того, изменение стабильности.

Такое разнообразие возможных путей изменения активности, а также разнообразие стоящих перед экспериментатором технических проблем делает особенно трудным анализ генетической и биохимической природы наследуемых количественных вариаций ферментативной активности. Технические проблемы возникают, в частности, в связи с тем, что ферментные белки в отличие от таких белков, как гемоглобин, обычно присутствуют лишь в следо-

вых количествах, и выделить фермент от одного индивидуума и охарактеризовать его — дело нелегкое. Кроме того, ферменты обычно легко обнаружить и охарактеризовать по их каталитической активности, а если она сильно снижена или совсем отсутствует, то изучение данной аномалии сильно затрудняется.

Имеется еще одна общая проблема, возникающая обычно в тех случаях, когда уже установлены наследуемые различия в активности определенного фермента. Хотя иногда удается выделить группы людей с четкими различиями в ферментативной активности (например, группы с относительно высокой или с относительно низкой активностью или такие, в которых активность совсем не обнаруживается), однако чаще всего таких четких различий обнаружить не удается. Диапазон колебаний может быть весьма широким, и у любого индивидуума может постоянно обнаруживаться уровень активности, характерный для определенного участка распределения, но зачастую классификация индивидуумов на группы невозможна из-за непрерывного характера распределения активности фермента. Четко выраженное бимодальное, а то и тримодальное распределение активности, по-видимому, скорее исключение, чем правило, даже в тех случаях, когда вариации в основном определяются небольшим числом генов. Все это крайне затрудняет точный генетический анализ, если только не удастся отыскать какие-то другие более четкие критерии, позволяющие охарактеризовать фермент у индивидуумов с разным уровнем активности.

Ниже, на примере нескольких конкретных ферментов, мы покажем, как решаются, по крайней мере частично, некоторые из этих общих проблем. Читатель сможет увидеть, как различия в одном гене могут приводить к характерным различиям ферментативной активности у разных людей, а также то, как дискретные и очень специфичные эффекты небольшого числа генов могут проявляться в виде непрерывного распределения по уровням активности.

II. СЫВОРОТОЧНАЯ ХОЛИНЭСТЕРАЗА (АЦИЛХОЛИН — АЦИЛГИДРОЛАЗА)

Активность этого фермента в сыворотке человека обычно достаточно высока. Сывороточная холинэстераза, вероятно, синтезируется главным образом в печени. Этот фермент легко гидролизует различные эфиры холина, такие, как ацетилхолин, бутирилхолин, бензоилхолин, а также некоторые другие эфиры, например эфиры ацетилсалициловой кислоты. Таким образом, субстратная специфичность сывороточной холинэстеразы достаточно широка, причем не известно, какой эфир служит естественным субстратом в нормальных условиях. Этот фермент (называемый иногда псевдохолинэстеразой) необходимо отличать от ацетилхолинэстеразы

стек называем
звет в нервн
граниченную
главным обра
Наследуем

привлекли вни
широко приме
венный препара
при хирургич

(фиг. 48). Об
но, так как о
зой с образова

чаях (в европ
необычно выс
когда после в

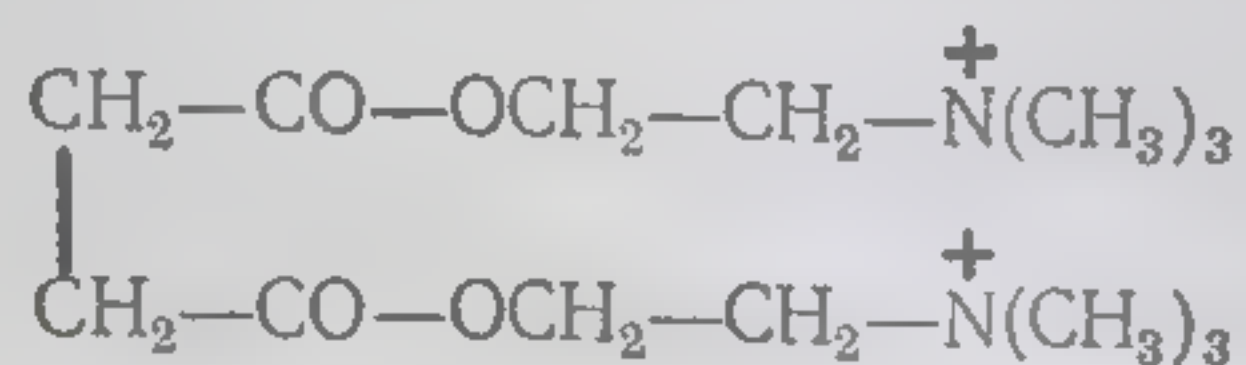
тельный пара
в течение двух
аут. Оказалос

ротке очень н
обычно высок
наружено, что

индивидуумов
уровень актив
инной степени
должно быть

наводили на
ностью к суко
эстеразы долж
в гетерозигот
фермента. Од
стимулируем
В действии
эстеразы в п
ны распреде
суксаметонин
соответствие

1. «Атипичн
Важный
что сыворо-



Ф и г. 48. Суксаметоний (сукцинилдихолин).

(так называемой «истинной» холинэстеразы), которая присутствует в нервной ткани и в эритроцитах и имеет значительно более ограниченную субстратную специфичность; ее субстратом служит главным образом ацетилхолин.

Наследуемые вариации сывороточной холинэстеразы впервые привлекли внимание после того, как в медицинской практике стал широко применяться суксаметоний (сукцинилдихолин) — лекарственный препарат, используемый в качестве мышечного релаксанта при хирургических операциях и при лечении электрошоком (фиг. 48). Обычно действие суксаметония очень непродолжительно, так как он быстро гидролизруется сывороточной холинэстеразой с образованием неактивных продуктов. Однако в редких случаях (в европейских странах с частотой около 1:2000) отмечается необычно высокая восприимчивость к действию этого препарата, когда после введения обычной дозы суксаметония наступает длительный паралич мышц и остановка дыхания, продолжающиеся в течение двух или больше часов вместо обычных нескольких минут. Оказалось, что у таких людей уровень холинэстеразы в сыворотке очень низок; это, вероятно, и послужило причиной их необычно высокой чувствительности [66, 162]. Более того, было обнаружено, что у значительного числа ближайших родственников индивидов с повышенной чувствительностью к суксаметонию уровень активности сывороточной холинэстеразы также в той или иной степени понижен [375]. Следовательно, данное свойство должно быть детерминировано генетически; имеющиеся данные наводили на мысль, что индивиды с повышенной чувствительностью к суксаметонию и с низким уровнем сывороточной холинэстеразы должны быть гомозиготны по аномальному гену, который в гетерозиготном состоянии вызывает умеренное снижение уровня фермента. Однако по уровню холинэстеразной активности три постулируемых генотипа было нелегко отличить один от другого. В действительности распределение уровней сывороточной холинэстеразы в популяции в целом является непрерывным, хотя границы распределения очень широки; индивиды, чувствительные к суксаметонию, попадают в тот участок распределения, который соответствует наименьшим значениям активности.

1. «Атипичная» сывороточная холинэстераза

Важный шаг вперед был сделан, когда удалось обнаружить, что сывороточная холинэстераза людей с повышенной чувстви-

тельностью к суксаметонию обладает некоторыми атипичными свойствами [130, 316, 317]. Например, константа Михаэлиса для этого фермента со всеми испытанными субстратами оказалась значительно выше, чем для фермента в контроле [130]. Кроме того, оказалось, что степень этих отличий зависит от природы субстрата (табл. 10).

ТАБЛИЦА 10

Константы Михаэлиса для «обычной» и «атипичной» холинэстеразы сыворотки (в качестве субстратов использованы различные эфиры холина [130])

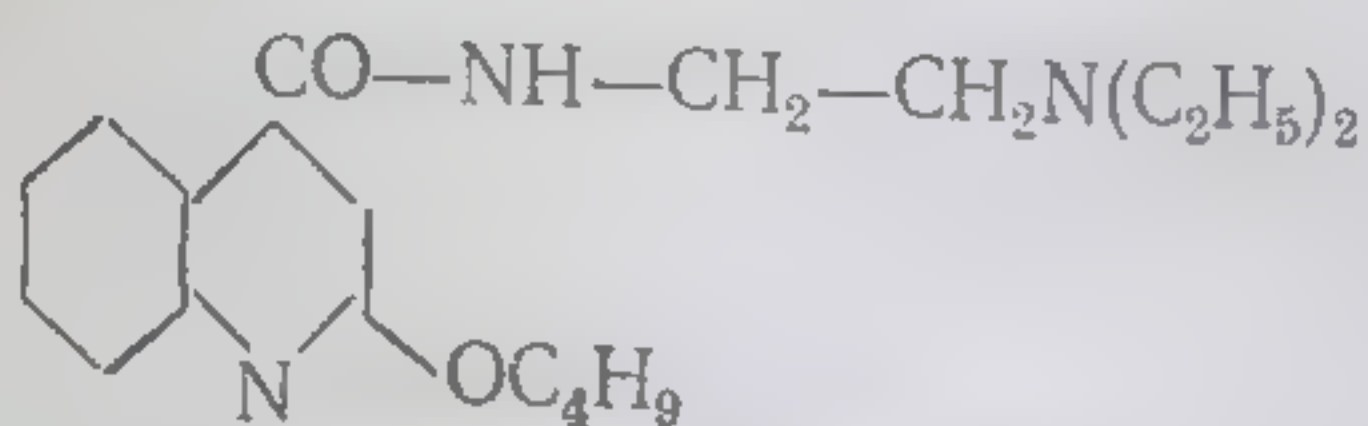
Эфир холина	Константа Михаэлиса (K_m), ммоль/л		Отношение K_m «атипичного» фермента к K_m «обычного» фермента
	«обычный» фермент	«атипичный» фермент	
Ацетилхолин	$1,40 \pm 0,04$	$9,0 \pm 0,10$	6,4:1
Пропионилхолин	$0,41 \pm 0,04$	$2,3 \pm 0,35$	5,6:1
Бутирилхолин	$0,29 \pm 0,03$	$1,2 \pm 0,08$	4,1:1
Пентаноилхолин	$0,72 \pm 0,04$	$1,5 \pm 0,17$	2,1:1
Гексаноилхолин	$0,57 \pm 0,09$	$0,82 \pm 0,06$	1,4:1
Гептаноилхолин	$0,38 \pm 0,22$	$1,11 \pm 0,14$	2,9:1
Бензоилхолин	$0,004 \pm 0,0003$	$0,022 \pm 0,003$	5,5:1

Значительные различия обнаружены также при использовании ингибиторов холинэстеразы, содержащих положительно заряженный атом азота в четвертичной аммониевой группе (как в холине)

ТАБЛИЦА 11

Действие различных ингибиторов на «обычную» и «атипичную» сывороточную холинэстеразу [316]

Ингибитор	Десятичный логарифм молярной концентрации, вызывающей 50%-ное подавление		Отношение концентраций, вызывающих 50%-ное подавление «атипичной» и «обычной» форм
	«обычный» фермент	«атипичный» фермент	
Прокаин	-4,36	-3,23	14:1
Декаметоний	-4,88	-2,74	141:1
Хлорпромазин	-5,36	-4,13	17:1
Дибукаин	-5,57	-4,27	20:1
Неостигмин	-6,89	-5,48	25:1
Физостигмин	-7,84	-6,57	18:1



Ф и г. 49. Дибукаин (нуперкаин, перкаин).

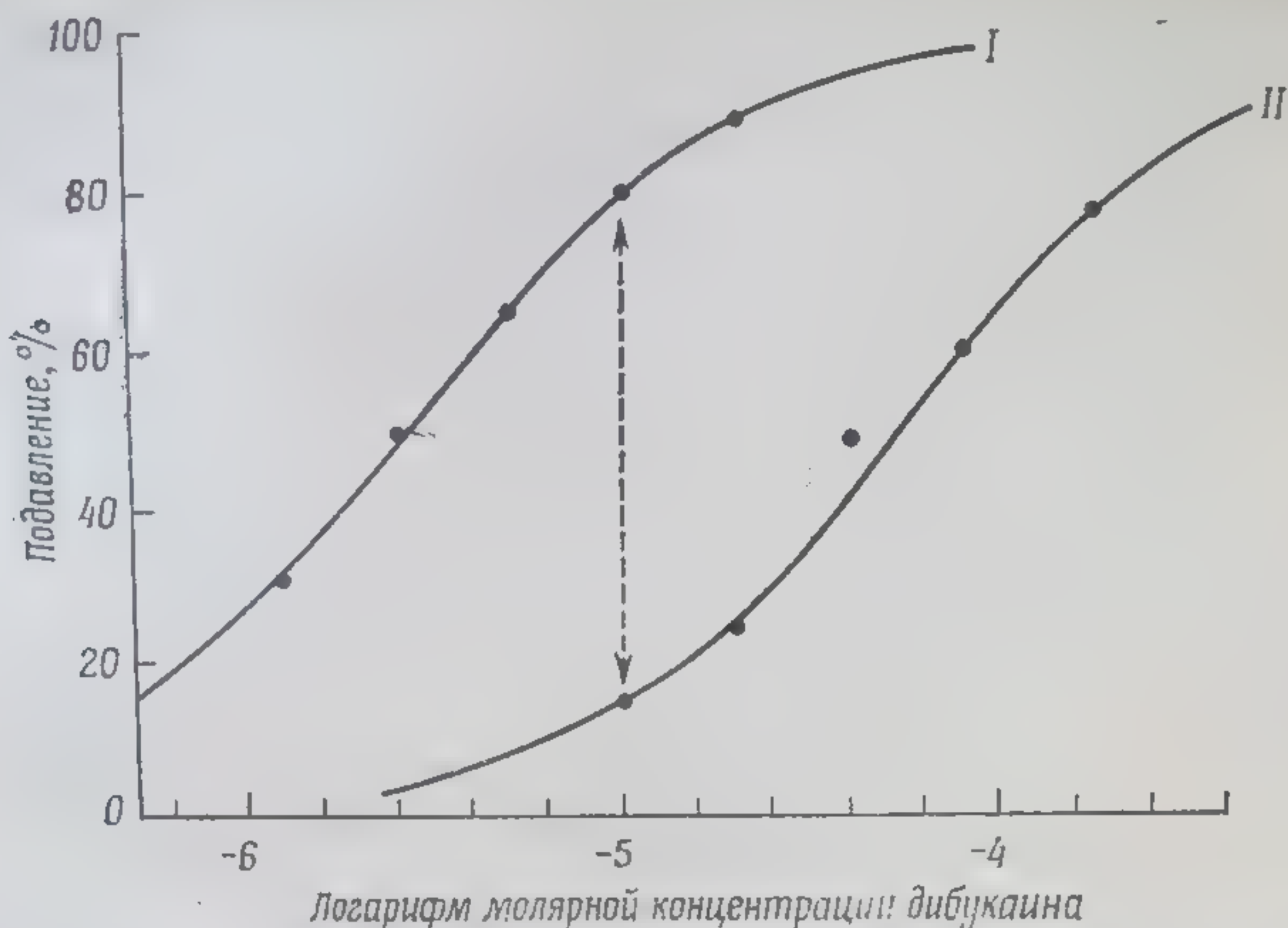
или в замещенной аминогруппе [316]. Фермент чувствительных к суксаметонию индивидуумов ингибируется каждым из этих веществ значительно слабее, чем нормальный фермент, причем и в этом случае опять-таки различия в степени подавления меняются от ингибитора к ингибитору (табл. 11).

Эти и другие данные (см., например, [103]) показывают, что сывороточная холинэстераза у людей, чувствительных к суксаметонию, должна качественно отличаться по структуре от фермента большинства других людей. Необходимо отметить, однако, что по некоторым свойствам, например по термостабильности и электрофоретической подвижности, эти две формы фермента заметно не различаются.

Кинетические особенности можно в основном объяснить тем, что атипичный фермент менее эффективно связывает субстрат или ингибитор. Возможно, это обусловлено изменением конфигурации так называемого «анионного участка» на поверхности молекулы фермента, где, как полагают, связываются заряженный холин или холинподобные группировки субстрата или ингибитора. Однако, независимо от структурной природы отмечаемых различий, данные кинетических опытов позволяют считать, что низкие уровни активности фермента у чувствительных к суксаметонию индивидуумов можно в основном, если не полностью, объяснить изменением его каталитических свойств. Вероятно, истинное количество ферментного белка в сыворотке людей с повышенной чувствительностью к суксаметонию примерно такое же, как в норме.

Исследования по ингибированию сывороточной холинэстеразы позволили предложить довольно простой тест для выявления атипичного фермента. Метод заключается в определении подавления активности сывороточной холинэстеразы ингибитором дибукаином (фиг. 49) в определенных стандартных условиях [317]. Степень подавления в процентах называют *дибукаиновым числом*. Дибукаиновое число для «атипичного» фермента имеет величину около 20 ± 4 , а для обычного фермента — около 80 ± 2 (фиг. 50). Все индивидуумы с дибукаиновым числом, близким к 20, отличаются высокой чувствительностью к суксаметонию.

При определении дибукаиновых чисел в случайных выборках из общей популяции удалось идентифицировать также третью группу людей. Дибукаиновое число этой группы равно 62 ± 4 ; говорят, что такие индивидуумы имеют промежуточный фенотип. Частота таких промежуточных фенотипов среди европейцев составляет



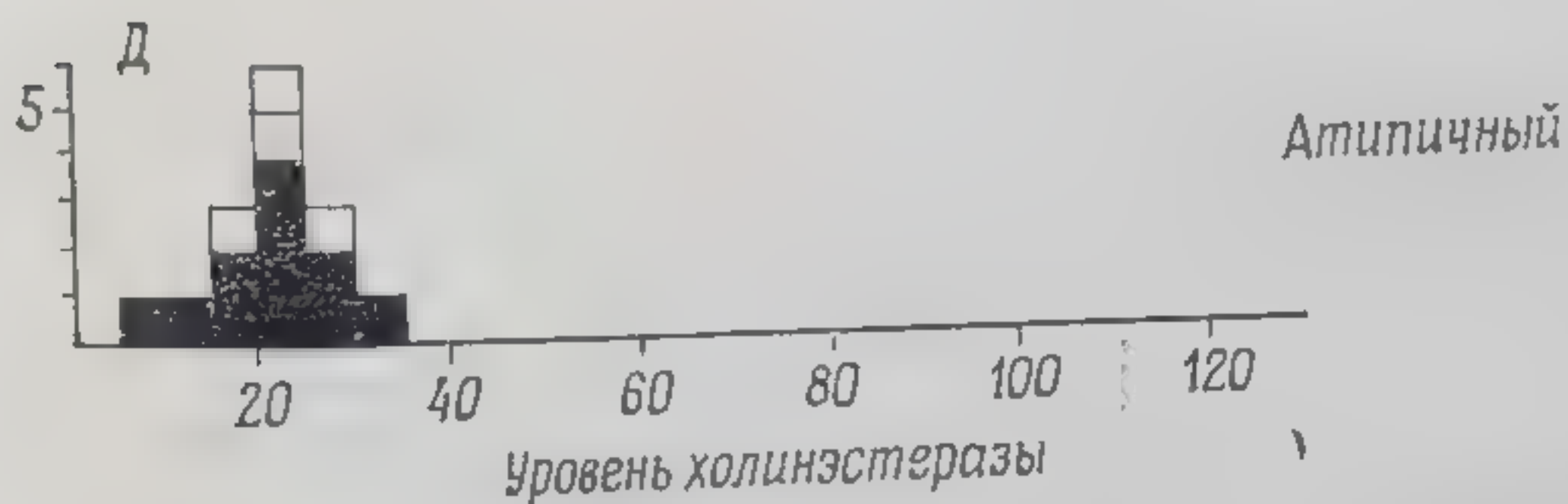
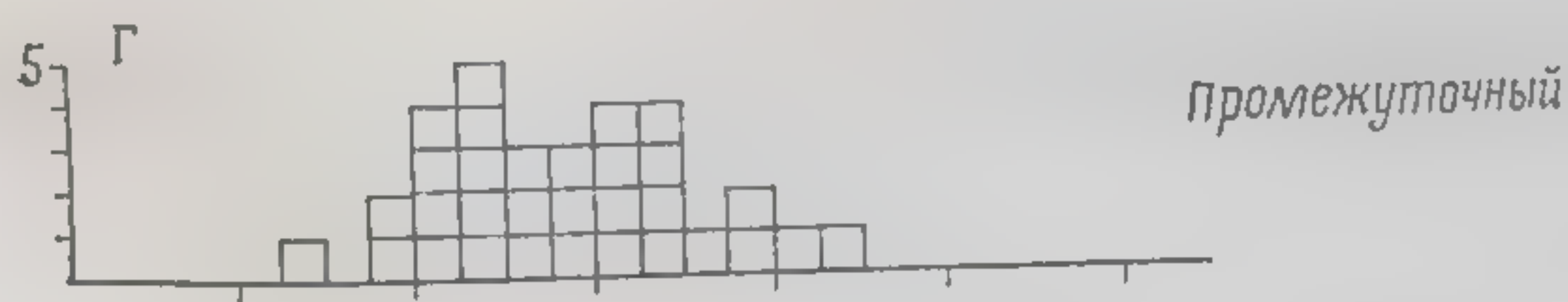
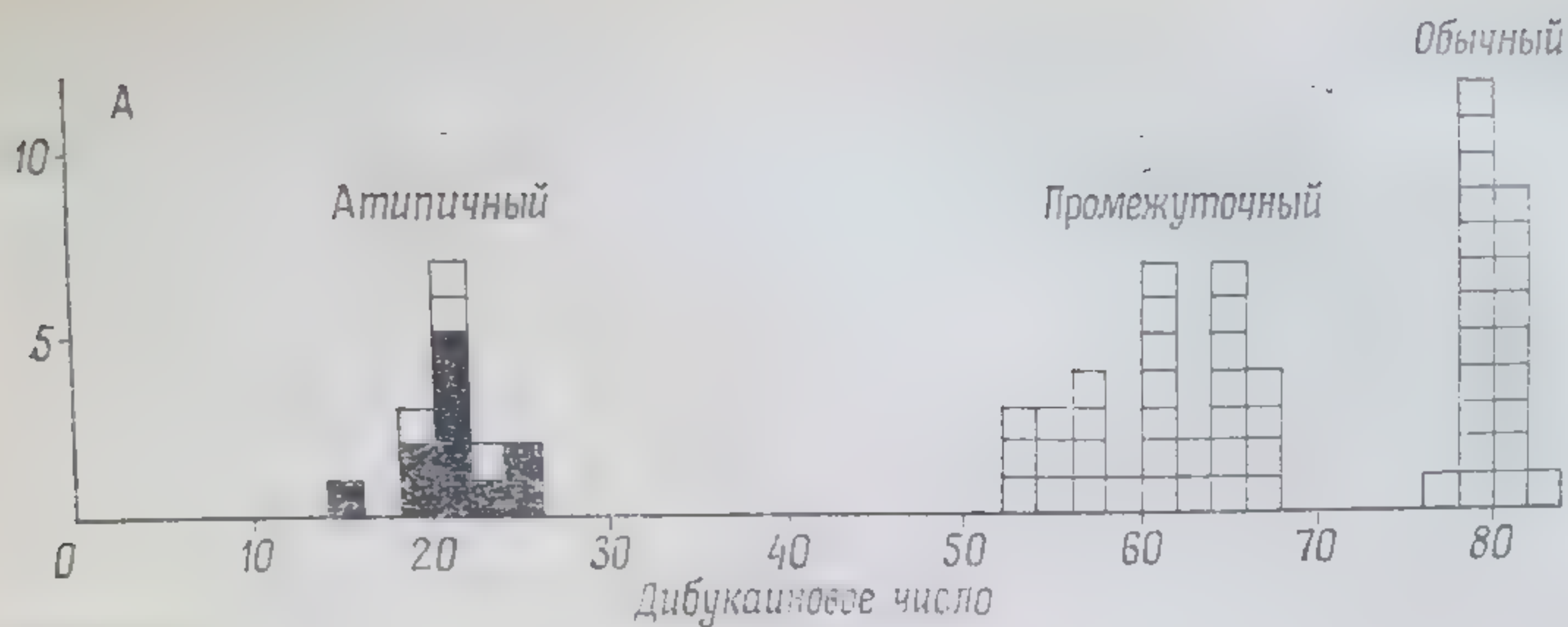
Ф и г. 50. Подавление активности «обычной» (I) и «атипичной» (II) форм сывороточной холинэстеразы при разных концентрациях дибукaina [317]. ■ Максимальные различия между двумя формами фермента наблюдаются при концентрации дибукaina 10^{-5} М. Активность определяли спектрофотометрически с бензонилхолином в качестве субстрата.

около 1:25. Как правило, такие индивидуумы не обладают особенной чувствительностью к суксаметонию. По-видимому, у них синтезируется как «обычная», так и «атипичная» форма сывороточной холинэстеразы, причем примерно в равных количествах.

С появлением метода определения дибукайнового числа стали возможными детальные генетические исследования. Изучено большое число семей, отобранных по наличию индивидуумов с повышенной чувствительностью к суксаметонию или индивидуумов с «промежуточным» типом, что было обнаружено в ходе популяционных исследований [238, 239, 318]. Большинство полученных результатов легко объяснить исходя из представления о расщеплении двух аллельных генов: E_1^u , определяющего фермент «обычного» типа, и E_1^a , определяющего «атипичный» фермент. У гомозигот $E_1^u E_1^u$ и $E_1^a E_1^a$ образуется только один фермент, соответствующий генотипу. У гетерозигот $E_1^u E_1^a$ синтезируются оба фермента и, следовательно, дибукайновые числа имеют «промежуточные» значения.

Интересно сравнить распределение людей на три фенотипа («обычный», «промежуточный» и «атипичный») по величинам дибукайнового числа с картиной, получаемой при измерении уровня ферментативной активности с помощью стандартных методов (фиг. 51). В среднем у индивидуумов с «атипичным» фенотипом, выявленных по дибукайновому числу, отмечается более низкий уро-

Ф и г. 51. Распределение активности в сыворотке крови каждого индивида по квадратам соотношения «обычного» и «атипичного» холинэстеразы в тесте с ацетилхолином (см. А). г — расщепление «промежуточным» ферментом, отмеченных к гр



Фиг. 51. Распределение дибукаиновых чисел и уровней холинэстеразной активности в сыворотке (данные для 11 индивидуумов с повышенной чувствительностью к суксаметонию и 58 их родственников) [239].

Каждый квадрат соответствует показателю для одного человека. Индивидуумы, чувствительные к суксаметонию, обозначены черными квадратами.

А — распределение дибукаиновых чисел; четко различаются три фенотипа: «обычный», «промежуточный» и «атипичный» (см. текст). Б — распределение уровней активности сывороточной холинэстеразы в тех же пробах сыворотки, что и в А. Активность определяли манометрически с ацетилхолином в качестве субстрата. В — распределение уровней активности у индивидуумов, отнесенных к группе с «обычным» фенотипом на основании их дибукаиновых чисел (см. А). Г — распределение уровней активности индивидуумов, отнесенных к группе «промежуточным» фенотипом (см. А). Д — распределение уровней активности у индивидуумов, отнесенных к группе с «атипичным» фенотипом (см. А). Распределение Б представляет собой сумму распределений (В), (Г) и (Д).

вень активности фермента, чем у индивидуумов с «нормальным» фенотипом, а у индивидуумов с «промежуточным» дибукаиновым числом отмечаются промежуточные уровни активности [239, 318]. Однако если определения дибукаинового числа дают три четко различимых фенотипа, то по активности фермента не удастся четко дифференцировать эти три фенотипа, поскольку уровни активности у них значительно перекрываются. Это и не удивительно, если принять во внимание, что дибукаиновое число отражает качественные характеристики фермента и не зависит от количества имеющегося ферментного белка, тогда как уровень активности определяется не только качественными характеристиками, но и количеством фермента. Поскольку на количество ферментного белка, содержащегося в любой данный момент в плазме, влияет много посторонних факторов, значения активности должны быть гораздо более переменными и гораздо менее четко характеризовать разные фенотипы. Иногда встречаются индивидуумы с «обычным» типом фермента, у которых уровень активности не отличается от среднего уровня, характерного для индивидуумов с «атипичным» фенотипом. Однако они значительно менее чувствительны к суксаметонию, и длительной остановки дыхания у них обычно не отмечается.

2. Молчащий аллель

При определениях дибукаинового числа в семьях, в которых встречаются индивидуумы с «атипичным» ферментом, выявились редкие исключения из правил наследования, вытекающих из простой гипотезы двух аллелей. Если все индивидуумы, содержащие только «атипичный» фермент, являются гомозиготами $E_1^a E_1^a$, тогда и их родители и все их дети должны нести ген E_1^a и, следовательно, иметь либо «промежуточное», либо «атипичное» дибукаиновое число. Хотя обычно это правило соблюдается, имеются некоторые семьи, в которых один из родителей или детей «атипичного» пробанда, по-видимому, имеет только фермент «обычного» типа [239, 318, 391, 582]. При этом возможность того, что пробанд был внебрачным ребенком, в данном случае можно исключить.

Описанные наблюдения легче всего объяснить, если допустить, что в таких исключительных семьях происходит расщепление по редкому третьему аллелю E_1^s , который полностью или почти полностью неэффективен в образовании функционально активного фермента. Этот предполагаемый аллель назвали «молчащим» аллелем. Если такой ген действительно существует, то у гетерозигот $E_1^a E_1^s$ должен образовываться только «атипичный» фермент, а у гетерозигот $E_1^c E_1^s$ — только «обычный» фермент, как показано ниже.

Возможен также терно полное или ности. Индивидуу ли обнаружены [1 оказались крайне

Можно предска тивности фермента умов $E_1^a E_1^c$, ана ны иметь более ни положение оказал каждого типа ко весьма значительно выделить только

В большинстве поэтому генотип ко в довольно из населения сывор как это характер ления в этих этни тогда как аллел считая крайней с генотипом $E_1^s E_1^s$ линзстеразы, сов

3. Сывороточная

Еще один ва данным образом холинэстеразы п натрия, который чего общего с д ляющими весь «атипичные» ве подавл

Сывороточная холинэстераза, образующаяся у индивидуумов с различными комбинациями аллелей E_1^u , E_1^a , E_1^s

Генотип	Фермент
$E_1^u E_1^u$	«Обычный»
$E_1^u E_1^a$	
$E_1^u E_1^s$	«Обычный» + «атипичный»
$E_1^a E_1^a$	
$E_1^a E_1^s$	«Атипичный»
$E_1^s E_1^s$	
	Фермент отсутствует

Возможен также еще один генотип $E_1^s E_1^s$, для которого характерно полное или почти полное отсутствие холинэстеразной активности. Индивидуумы с такой редкой аномалией действительно были обнаружены [141, 203, 256, 391]. Как и следовало ожидать, они оказались крайне чувствительными к суксаметонию.

Можно предсказать, что у индивидуумов $E_1^u E_1^s$ уровень активности фермента в среднем должен быть ниже, чем у индивидуумов $E_1^u E_1^u$; аналогичным образом индивидуумы $E_1^a E_1^s$ должны иметь более низкий уровень активности, чем $E_1^a E_1^a$. Это предположение оказалось справедливым, однако поскольку в пределах каждого типа колебания уровня сывороточной холинэстеразы весьма значительны, обычно различные типы не удается однозначно выделить только на основе определений активности.

В большинстве популяций частота аллеля E_1^s весьма мала, поэтому генотип $E_1^s E_1^s$ встречается исключительно редко. Однако в довольно изолированных группах эскимосов Аляски у 1...2% населения сывороточная холинэстераза практически отсутствует, как это характерно для генотипа $E_1^s E_1^s$ [216]. Почти 25% населения в этих этнических группах являются гетерозиготами $E_1^u E_1^s$, тогда как аллель E_1^a здесь вообще не удалось обнаружить. Не считая крайней чувствительности к суксаметонию, индивидуумы с генотипом $E_1^s E_1^s$, у которых фактически нет сывороточной холинэстеразы, совершенно здоровы.

3. Сывороточная холинэстераза, устойчивая к фторидам

Еще один вариант фермента был обнаружен несколько неожиданным образом [237]. Известно, что активность сывороточной холинэстеразы подавляется низкими концентрациями фтористого натрия, который в химическом отношении не имеет абсолютно ничего общего с дибукаином и близкими к нему веществами, позволяющими весьма специфично дифференцировать «обычные» и «атипичные» формы фермента. Можно было ожидать, что в основе подавления активности сывороточной холинэстеразы фтористым

натрием лежит совершенно другой механизм. Однако, используя в качестве ингибитора фтористый натрий, можно различить те же формы фермента — «обычную» и «атипичную». Активность «атипичного» фермента подавляется фтористым натрием в гораздо меньшей степени, чем активность «обычного». При проверке с использованием фтористого натрия в качестве ингибитора большого числа различных образцов сывороток, предварительно классифицированных по дибукаиновому тесту на «атипичный», «промежуточный» и «обычный» типы, распределение на три фенотипа, за немногими исключениями, оказалось идентичным.

Однако как раз эти немногочисленные исключения оказались крайне интересными. Обследование семей показало, что в данном случае речь идет о совершенно особом фенотипе сывороточной холинэстеразы, который удастся точно идентифицировать только при совместном использовании тестов с дибукаином и с фтористым натрием [238, 390, 690]. Выяснилось, что существует аллель (E_1^f), определяющий третью форму сывороточной холинэстеразы со свойствами, отличными от свойств ранее обнаруженных «обычной» и «атипичной» форм. Ее называли «формой, устойчивой к фториду». Эта холинэстераза может присутствовать вместе с «обычным» ферментом у индивидуумов с генотипом $E_1^u E_1^f$ или вместе с «атипичным» ферментом у индивидуумов генотипа $E_1^a E_1^f$. Она может встречаться одна в генотипах $E_1^f E_1^f$ и $E_1^f E_1^s$. Устойчивый к фториду фермент обладает меньшей активностью, чем «обычный» фермент, но большей, чем «атипичный», так что различные группы индивидуумов, у которых он встречается, в среднем различаются по уровням холинэстеразной активности.

4. Множественный аллелизм, ответственный за «непрерывный» характер вариаций активности

Четыре описанных аллеля (E_1^u , E_1^a , E_1^f и E_1^s) дают начало десяти различным генотипам, перечисленным в табл. 12. Для их идентификации могут потребоваться не только тесты с дибукаином и фтористым натрием, но также детальные обследования семей. В среднем эти генотипы различаются по уровню активности, однако в каждой группе отмечаются весьма значительные индивидуальные различия, обусловленные побочными факторами. Поэтому общее распределение активности в крупной популяции, содержащей весь набор генотипов, является непрерывным.

У индивидуумов с генотипами $E_1^a E_1^a$, $E_1^a E_1^s$ и $E_1^s E_1^s$ после введения суксаметония развивается продолжительный паралич мышц. У индивидуумов с генотипом $E_1^a E_1^f$, $E_1^f E_1^f$ и $E_1^f E_1^s$ также наблюдается несколько повышенная чувствительность к суксаметонию, хотя степень ее может быть различной.

Аллели E_1^u , E_1^a и E_1^f , по-видимому, определяют различающиеся по структуре формы ферментного белка. Возможно, разли-

ИНГИБИТОР
АКТИВНОСТИ

Генотип

$E_1^u E_1^u$	Обыч
$E_1^u E_1^a$	Обыч
$E_1^u E_1^f$	Обыч
$E_1^u E_1^s$	Обыч
$E_1^a E_1^a$	Усто
$E_1^a E_1^f$	Усто
$E_1^a E_1^s$	Атип
$E_1^f E_1^f$	Усто
$E_1^f E_1^s$	Усто
$E_1^s E_1^s$	Атип
$E_1^s E_1^f$	—

1) Приведены относительные значения активности фермента в различных условиях определения

ния в каждом из этих ферментов, они очень различны в комбинациях при определении ферментной активности, но по сравнению с другими кинетическими вариациями

ТАБЛИЦА 12

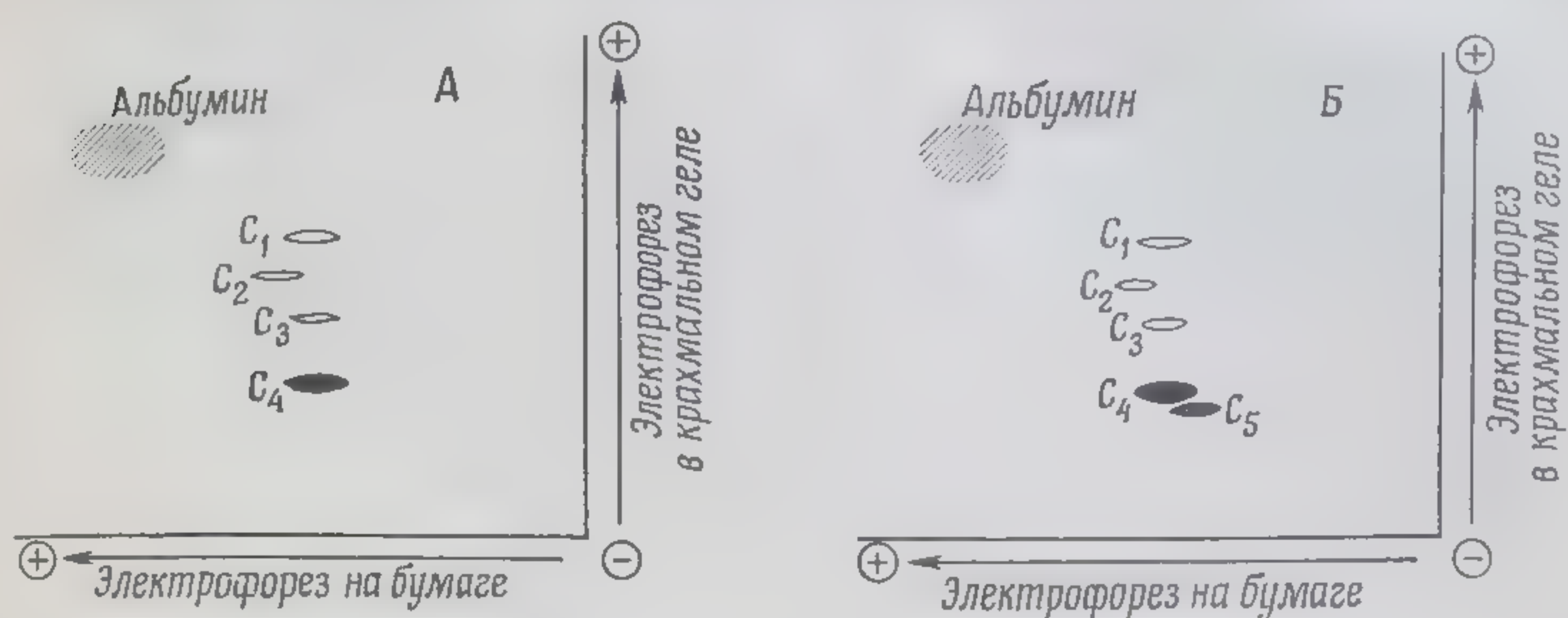
Генотипы и фенотипы сывороточной холинэстеразы;
ингибирование дибукаином и фтористым натрием и относительные
активности фермента у индивидуумов с 10 различными генотипами¹⁾

Генотип	Фермент	Характеристики ингибирования		Относительная активность
		дибукаин	фторид	
$E_u E_u$	«Обычный»	80	60	100
$E_u E_f$	«Обычный» + «устойчивый к фториду»	75	50	85
$E_u E_a$	«Обычный» + «атипичный»	60	50	75
$E_u E_s$	«Обычный»	80	60	70
$E_f E_a$	«Устойчивый к фториду» + «атипичный»	50	30	60
$E_f E_f$	«Устойчивый к фториду»	65	30	55
$E_a E_a$	«Атипичный»	20	20	50
$E_f E_s$	«Устойчивый к фториду»	65	30	30
$E_a E_s$	«Атипичный»	20	20	25
$E_s E_s$	—	—	—	0

1) Приведены округленные средние значения, вычисленные по данным нескольких лабораторий. Относительную активность определяли с бензоилхолином в качестве субстрата при стандартизованных условиях. Эта «относительная активность» изменяется при изменении субстрата и условий определения.

чия в каждом конкретном случае выражаются в единичном аминокислотном замещении, однако неизвестно, в каком именно. Эти ферменты различаются по кинетическим свойствам при использовании различных субстратов и ингибиторов, однако, по-видимому, они очень близки в других отношениях (например, по электрофоретической подвижности и по молекулярной массе). В основе различий в активности, наблюдаемых для разных генотипических комбинаций этих аллелей, видимо, лежат главным образом различия в кинетике реакций с субстратами, которые использовались при определении, а не различия в скорости синтеза или в стабильности ферментного белка.

Заслуживает упоминания тот факт, что снижение уровня активности, наблюдаемое для данного генотипа (например, $E_a E_a$), по сравнению с активностью обычного или нормального генотипа $E_u E_u$ может значительно варьировать в зависимости от используемого субстрата. На результаты определения активности влияют также концентрации субстратов и другие условия. Дело в том, что кинетические характеристики этих ферментов достаточно сложны, и вариации кинетики от субстрата к субстрату у «обычной», «атипичной» и «устойчивой к фториду» форм далеко не всегда парал-



Ф и г. 52. Схема разделения изоферментов сывороточной холинэстеразы при двумерном электрофорезе на бумаге и в крахмальном геле при pH 8,6 [226]. А — сыворотка C_5^- ; Б — сыворотка C_5^+ . Изофермент C_4 присутствует в обоих случаях, причем его вклад в общую активность сывороточной холинэстеразы является основным в случае сыворотки C_5^- (А) и составляет 65...90% в случае сыворотки C_5^+ (Б). Изоферменты C_1 , C_2 и C_3 — минорные компоненты, присутствующие в обоих случаях (А и Б). Электрофоретическая подвижность в крахмальном геле в направлении к аноду убывает в порядке $C_1 > C_2 > C_3 > C_4 > C_5$, однако при электрофорезе на бумаге этот порядок иной: $C_2 > C_1 = C_3 = C_4 > C_5$. Это объясняется тем, что изоферменты различаются как по заряду молекулы, так и по размерам. Размеры молекул разных изоферментов убывают в порядке $C_4 \approx C_5 > C_3 > C_2 > C_1$ [234].

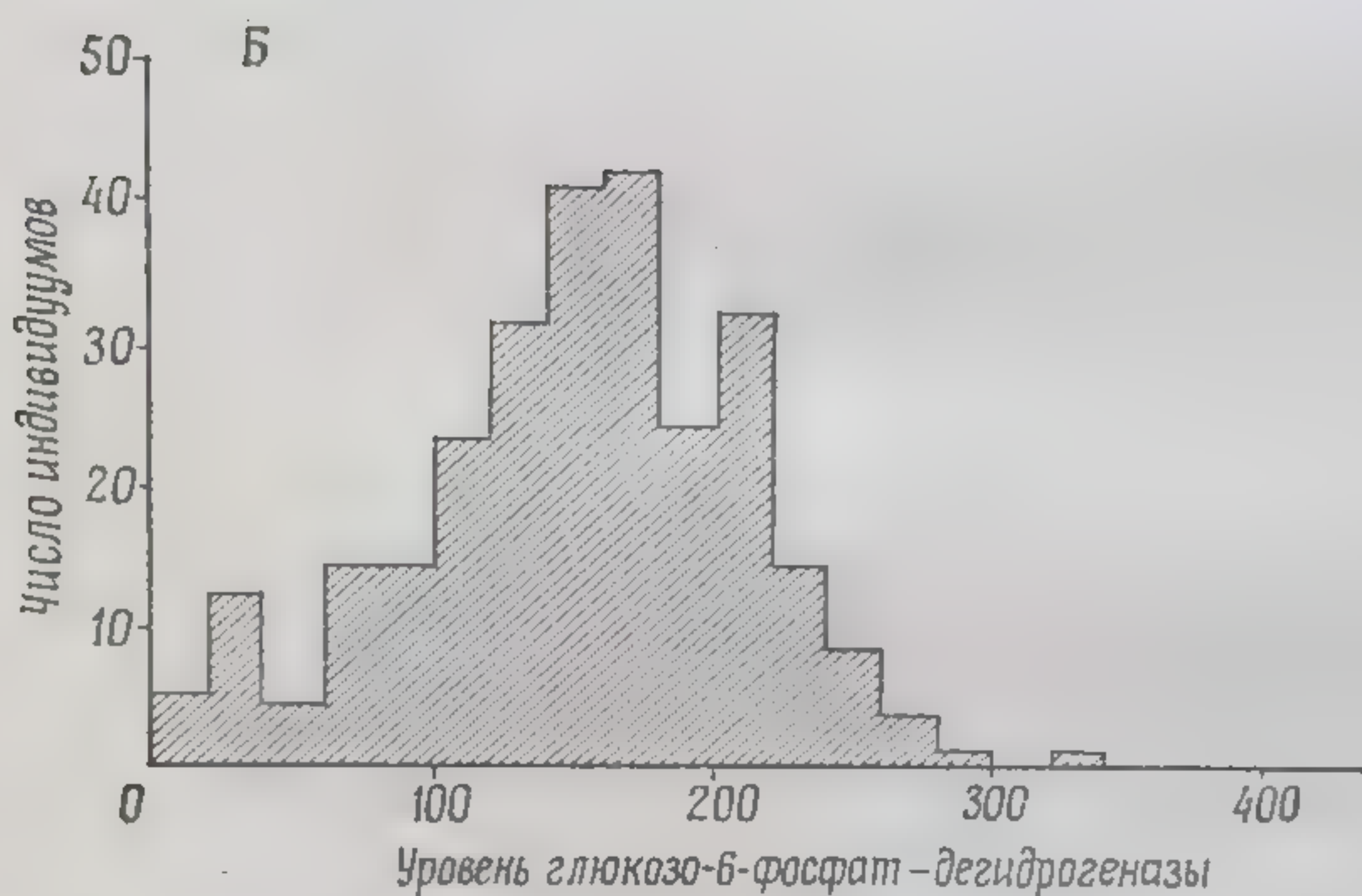
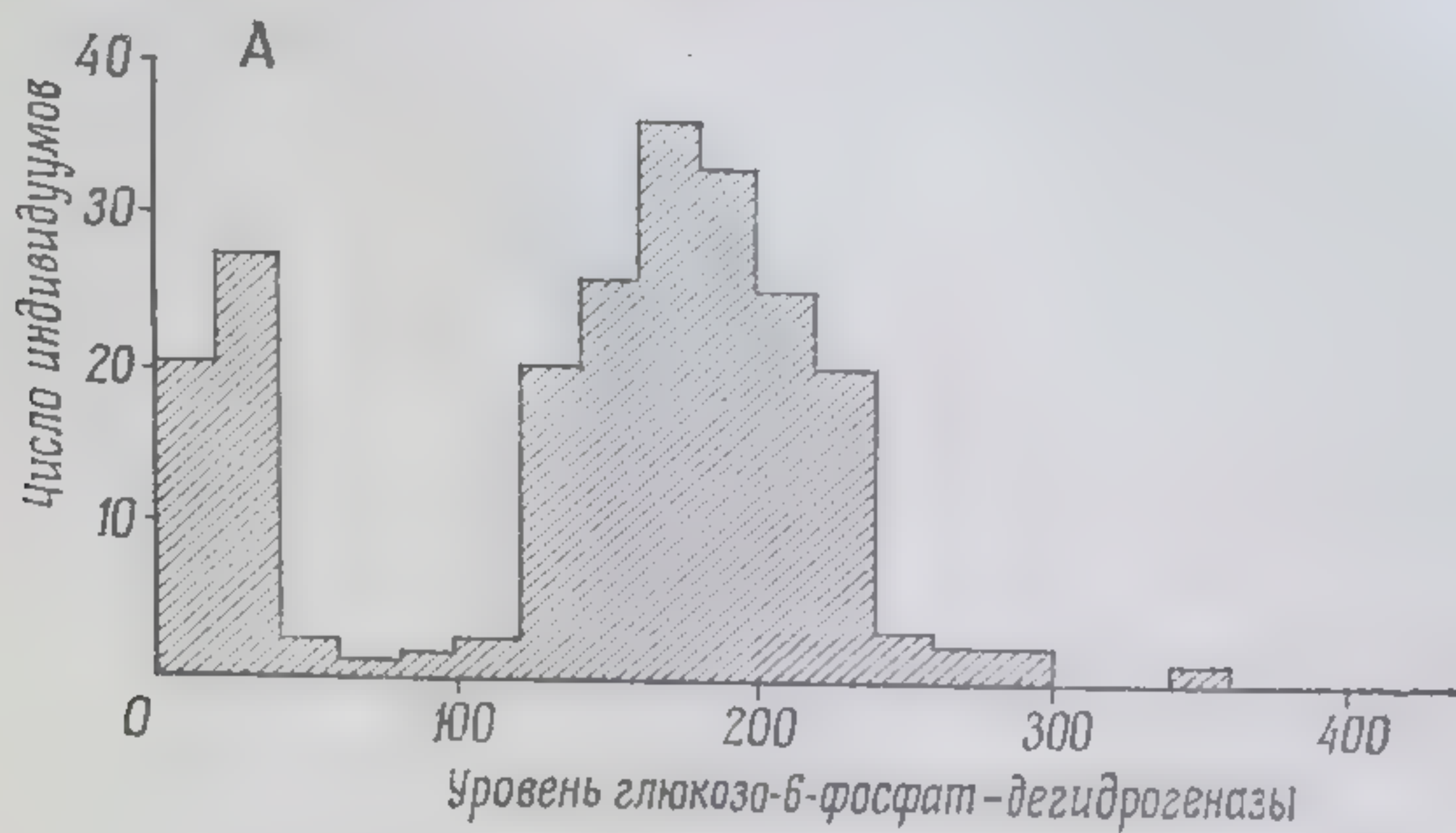
эстеразы сыворотки; аллели одного из них (E_1) определяют как качественные, так и количественные различия фермента. Что касается другого локуса (E_2), то один из аллелей, которые могут в нем присутствовать, E_2^+ , определяет образование добавочного изофермента C_5 , тогда как другой аллель, E_2^- , вероятно, функционально неактивен. Уровень активности фермента у любого человека будет зависеть от того, какие аллели присутствуют в этих двух локусах, а также, несомненно, от разнообразных негенетических факторов. Например, уровень холинэстеразы в сыворотке обычно снижается при заболеваниях печени (вероятно, в связи с подавлением синтеза ферментного белка).

III. ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗА (Г-6-ФД)

1. Нарушения глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

Наследуемые вариации глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы были открыты после того, как обнаружилось, что у американских негров после приема синтетического противомаларийного препарата при-махина часто развивается острый гемолиз [255]. Гемолиз возникает из-за особой аномалии [137], которая состоит в том, что в эритроцитах наблюдается характерная недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [97].

Этот фермент катализирует окисление глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконат, сопровождающееся восстановлением кофермента



Ф и г. 53. Распределение уровней активности глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназы у нигерийцев (235 мужчин и 284 женщины) [458].

А — мужчины; Б — женщины.

же действие оказывают сульфамидные препараты, например сульфамиридин, сульфаниламид (белый стрептоцид) и другие антибактериальные средства, например нитрофурантоин, различные противомаларийные препараты, например пентахин, и т. д. Обнаружено также, что особая форма недостаточности Г-6-ФД служит

Лекарственные препараты ■ другие вещества,
вызывающие клинически выраженный гемолиз у людей с недостаточностью
Г-6-ФД (из технического отчета ВОЗ, № 366, 1967)

Ацетанилид
Фенилгидразин
Сульфаниламид
Сульфацетамид

Сульфамиридин
Сульфаметоксипиридазин (кинекс)
Салицилазосульфамиридин (азульфидин)
Тиазосульфон

Диаминодифенилсульфон
Тринитротолуол
Нитрофуразон (фурацин)
Нитрофурантоин (фурадантин)
Фуразолидон
Фуралтодон (альтофур)
Хинидин

Примахин
Памахин
Пентахин
Хиноцид
Нафталин
Неосальварсан
Конские бобы

причиной заболевания, известного под названием фавизма (латинизма). Уже давно фавизм довольно часто отмечали в некоторых районах Ближнего Востока и Средиземноморья [366, 613, 707]. Это заболевание проявляется в виде острой гемолитической анемии, которая наступает при употреблении в пищу конских бобов, обычного пищевого продукта в этих районах.

2. Обычные варианты Г-6-ФД у негров и у жителей средиземноморских стран: GdB, GdA, GdA— ■ Gd-Средиземноморский

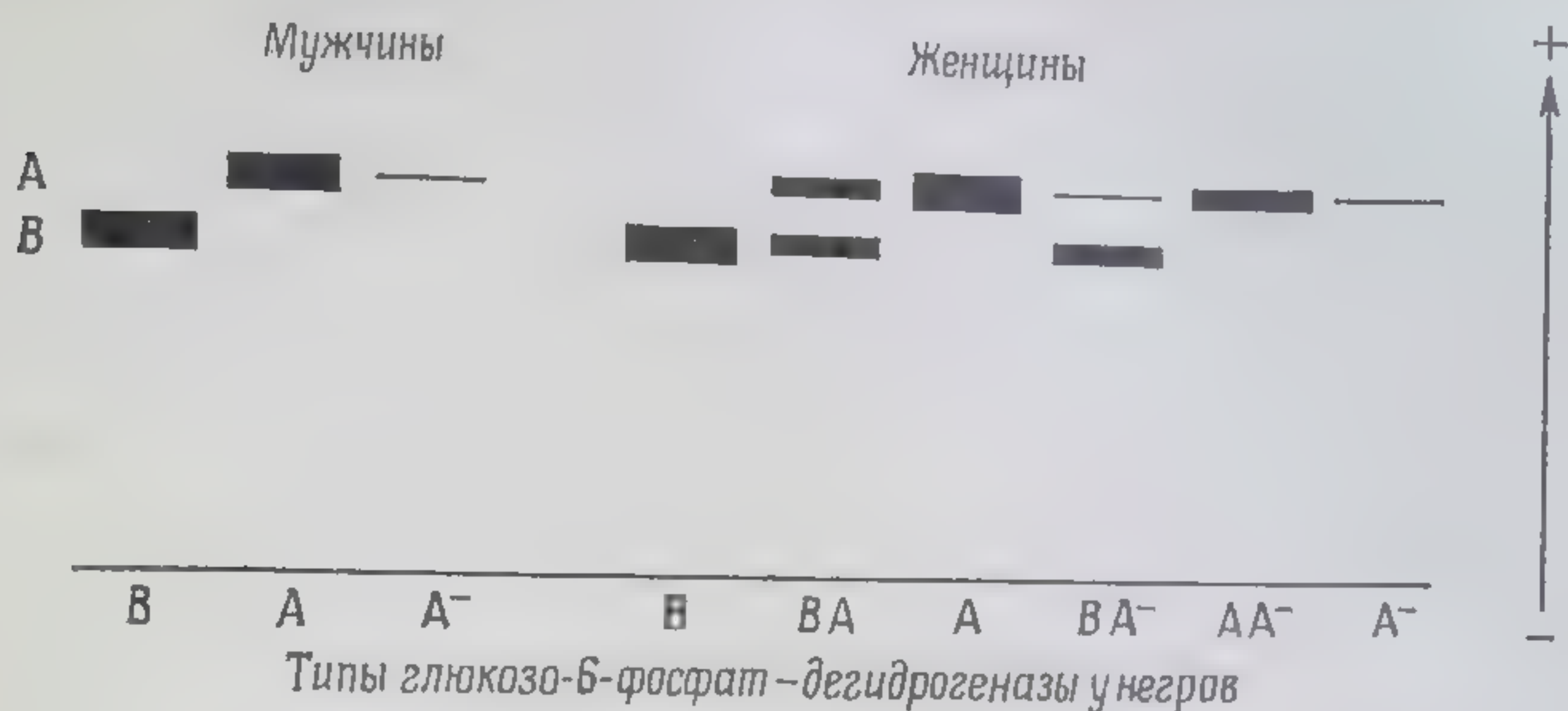
Как и дефицит Г-6-ФД у негров, дефицит Г-6-ФД у жителей средиземноморских стран и стран Ближнего Востока определяется мутантным геном, расположенным в X-хромосоме. Одако это совсем другая мутация, и определяемая ею аномалия также имеет некоторые характерные отличия от описанных ранее форм недостаточности Г-6-ФД. В частности, уровень фермента в эритроцитах мужчин с так называемой «средиземноморской» (Mediterranean) формой недостаточности Г-6-ФД составляет около 3...4% от нормального уровня, тогда как при «негритянской» форме эта величина составляет в среднем около 15%. При «средиземноморской» форме происходит также значительное снижение уровня Г-6-ФД в лейкоцитах и в других тканях, тогда как в случае «негритянской» формы такое снижение или не обнаруживается или очень мало [421]. Следовательно, если судить по уровню ферментативной активности, то «средиземноморская» форма представляет собой значительно более тяжелую аномалию.

Другое различие между этими двумя формами было обнаружено при электрофоретических исследованиях. Кроме того, этот метод позволил выявить еще одну группу вариантов Г-6-ФД, сравнительно часто встречающихся у негров; наличие этих вариантов не связано, однако, с заметным уменьшением ферментативной активности [72, 334].

При электрофоретическом исследовании Г-6-ФД у непораженных негров можно выделить две формы (фиг. 54). Компонент, медленно движущийся при pH 8,6, был назван В-формой, а компонент, движущийся быстрее, — А-формой. У мужчин обнаруживается либо А-форма, либо В-форма фермента, но никогда обе формы

Фиг. 54. Электрофоретическая картина Г-6-ФД у негров.

сразу. Кроме почти всегда с вижностью, ха форетической в эритроцитах на три основны и GdA-. Для ф тивности ферме относится к фо мальный уровень нотип GdA— ха нормального ур сти фермент от Относительно в разных район ность йоруба) нотип GdA и он негритянского нотип GdB сос тип GdA— 10... типы определяя расположенного ственно GdB, G нотипов (соотв Три из них ан ров и соответс GdA-GdA- Три GdB-GdA- GdB-GdA- При так на ности Г-6-ФД с относится к фо



Ф и г. 54. Электрофоретические компоненты глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы эритроцитов у негров с различным фенотипом.

сразу. Кроме того, выяснилось, что при недостаточности Г-6-ФД почти всегда обнаруживается фермент с электрофоретической подвижностью, характерной для формы А. Таким образом, по электрофоретической подвижности фермента и по уровню его активности в эритроцитах мужское негритянское население можно разделить на три основные группы. Эти три фенотипа обозначают GdB, GdA и GdA⁻. Для фенотипа GdB характерен нормальный уровень активности фермента, который по электрофоретической подвижности относится к форме В. Для фенотипа GdA также характерен нормальный уровень активности, но фермент относится к А-форме. Фенотип GdA⁻ характеризуется пониженной активностью (около 15% нормального уровня), причем по электрофоретической подвижности фермент относится к А-форме.

Относительная частота этих трех ферментов несколько варьирует в разных районах. Например, среди мужчин-нигерийцев (народность йоруба) около 56% имеют фенотип GdB, около 22% — фенотип GdA и около 22% — фенотип GdA⁻ [502]. Среди мужского негритянского населения США типичное соотношение таково: фенотип GdB составляет 60...70%, фенотип GdA 15...20% и фенотип GdA⁻ 10...15%. Обследование семей показало, что эти фенотипы определяются тремя различными аллелями одного локуса, расположенного в X-хромосоме; эти аллели обозначают соответственно Gd^B, Gd^A и Gd^{A-}. У негритянок возможны 6 различных генотипов (соответствующие фенотипы представлены на фиг. 54). Три из них аналогичны трем описанным фенотипам мужчин-негров и соответствуют гомозиготным генотипам Gd^BGd^B, Gd^AGd^A и Gd^{A-}Gd^{A-}. Три другие соответствуют гетерозиготным генотипам Gd^BGd^A, Gd^BGd^{A-} и Gd^AGd^{A-}.

При так называемой «средиземноморской» форме недостаточности Г-6-ФД фермент по своей электрофоретической подвижности относится к форме В, так же, как и фермент в норме. Аллель, вы-

зывающий появление «средиземноморской» формы недостаточности фермента, почти наверняка расположен в том же локусе, что и обычные аллели, встречающиеся у негров. Этот аллель обозначают *Gd^{Mediterranean}*.

Четыре аллеля *Gd^B*, *Gd^A*, *Gd^{A-}* и *Gd^{Mediterranean}*, по-видимому, определяют четыре различающихся по структуре формы ферментного белка Г-6-ФД (см. ниже, табл. 13). В-форму фермента можно считать нормальной, поскольку она наиболее распространена и встречается повсеместно. Другие формы, возможно, различаются между собой единичным аминокислотным замещением. Данные по этому вопросу были получены при изучении структуры А-формы (определяемой аллелем *Gd^A*). У этой формы в определенном положении, в котором в В-ферменте присутствует аспарагин, стоит остаток аспарагиновой кислоты [701]. До сих пор не удалось провести аналогичные структурные исследования типов фермента *GdA⁻* и *Gd*-Средиземноморский из-за трудностей их выделения в достаточных количествах в чистом виде. Однако сравнительное изучение их свойств позволило выявить некоторые другие интересные черты отличия и сходства.

Фермент А, хотя и отличается электрофоретически от нормального фермента В, во многих других отношениях очень сходен с ним. Оба фермента, по-видимому, имеют абсолютно идентичные величины K_m с глюкозо-6-фосфатом и НАДФ, близкие оптимумы рН и близкие скорости тепловой денатурации. Таким образом, структурное изменение, обуславливающее электрофоретические различия этих ферментов, не приводит к каким-либо заметным различиям в их каталитической активности или стабильности. Однако, вероятно, имеются все же некоторые очень слабые различия между ними, которые просто невозможно обнаружить существующими методами. Так, определяя активность Г-6-ФД в эритроцитах большого числа индивидуумов *GdB* и *GdA*, удалось выявить небольшую разницу в средней активности двух форм фермента. Средняя активность у индивидуумов *GdA* примерно на 10% ниже, чем у индивидуумов *GdB*, хотя распределения активностей и перекрываются.

Фермент А — (определяемый аллелем *GdA⁻*) имеет ту же электрофоретическую подвижность, что и фермент А, и очень близок к нему, а также к ферменту В по кинетическим и некоторым другим свойствам [331, 422]. Однако этот фермент довольно сильно отличается по стабильности *in vivo*, что было обнаружено при сравнении ферментативных активностей относительно «юных» и более зрелых эритроцитов [499, 702]. Эритроциты разделяли на группы по «возрасту» с помощью центрифугирования в градиенте плотности. Оказалось, что активность Г-6-ФД в менее зрелых популяциях клеток (с высоким процентом ретикулоцитов) у индивидуумов с фенотипом *GdA* — почти такая же, как и у индивидуумов *GdB*. Однако при исследовании более зрелых клеток обнаружива-

ются значительные отличия. В более «старых» эритроцитах у индивидуумов GdB активность Г-6-ФД значительно выше, чем в таких же клетках у индивидуумов GdA—. Эти исследования позволили установить, что время полужизни фермента в эритроцитах при фенотипе GdB составляет около 62 дней, тогда как при фенотипе GdA— всего около 13 дней [499]. Следовательно, дефицит фермента у негров с фенотипом GdA—, по-видимому, является результатом более быстрой денатурации фермента А— *in vivo*. В пробах, используемых при обычных определениях фермента, конечно, присутствуют клетки всех возрастов, поэтому величины активности, получаемые для индивидуумов с генотипом GdB или GdA, представляют собой средние значения, промежуточные между сравнительно высоким уровнем в «молодых» клетках и низким уровнем в «более старых».

Выяснение этих возрастных различий позволило понять, почему при фенотипе GdA— не обнаруживается заметного дефицита Г-6-ФД в лейкоцитах. Продолжительность жизни эритроцитов обычно составляет более 100 дней, однако они утрачивают ядра и способность к синтезу белка на ранних стадиях созревания. Содержание Г-6-ФД все время снижается вследствие денатурации, но синтеза нового ферментного белка не происходит. В то же время лейкоциты содержат ядра и способны к постоянному синтезу фермента. Таким образом, более быстрый распад фермента А— в циркулирующих лейкоцитах в отличие от эритроцитов лишь очень слабо заметен.

Фермент Gd-Средиземноморский имеет ту же электрофоретическую подвижность, что и фермент В, но отличается от него по некоторым другим свойствам [335], например по значительно более низкой величине K_m для глюкозо-6-фосфата и НАДФ. Эти ферментные белки различаются также по скорости денатурации при повышенных температурах: «средиземноморская» форма денатурирует значительно быстрее. Имеются также различия в оптимумах рН. Особенно необычное свойство «средиземноморской» формы — ее способность окислять 2-дезоксиглюкозо-6-фосфат со скоростью, составляющей около 25...30% скорости окисления глюкозо-6-фосфата. Эти свойства фермента, по-видимому, есть следствие его измененной структуры. Однако очень низкая активность фермента, характерная для фенотипа Gd-Средиземноморский, очевидно, обусловлена, как и в случае фермента А—, пониженной стабильностью ферментного белка *in vivo*, только у фермента «средиземноморского» типа этот эффект выражен даже еще сильнее. Скорость его распада, вероятно, крайне высока, и хотя в незрелых эритроцитах дефицит фермента выражен несколько слабее, чем в «зрелых», тем не менее снижение уровня ферментативной активности вполне заметно уже в ретикулоцитах [499]. У индивидуумов с фенотипом Gd-Средиземноморский обнаружена также значительная недостаточность Г-6-ФД в лейкоцитах [511].

Как мы видели, фенотип GdA— весьма обычен среди негров, а фенотип Gd-Средиземноморский довольно часто встречается среди населения Ближнего Востока и южной Европы. Большинство людей с этими двумя формами недостаточности Г-6-ФД совершенно здоровы, и патологические симптомы появляются у них лишь после приема того или иного лекарственного препарата, к которому они чувствительны, или (в случае фермента «средиземноморского» типа) после употребления в пищу конских бобов. В этих случаях у них развивается острая гемолитическая реакция. Однако степень тяжести этой реакции очень вариабельна. Так, некоторые люди с ферментом «средиземноморского» типа могут употреблять в пищу бобы без каких-либо серьезных последствий, тогда как у других при этом быстро развивается тяжелый гемолитический криз. Причина этих различий неизвестна. Возможно, они отчасти детерминированы генетически и, по-видимому, зависят от того, каким обменным превращениям подвергается в организме активное вещество, содержащееся в бобах.

3. Другие варианты глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

Кроме описанных обычных форм недостаточности Г-6-ФД в различных популяциях найдены также некоторые другие формы. Каждая из них, по-видимому, связана с синтезом отличающейся по структуре молекулы фермента, обладающей характерными свойствами. Как правило, аллели, определяющие эти формы, встречаются относительно редко, причем они, вероятно, неравномерно распределены в различных популяциях. Однако некоторые аллели встречаются в определенных районах с заметной частотой. Например, аллель, определяющий вариант Gd-Кантон, весьма распространен у выходцев из южного Китая и прилегающих районов, а аллель, определяющий Gd-Афины, довольно часто встречается в Греции. Эти варианты Г-6-ФД отличаются от других вариантов и от обычных форм фермента GdB, GdA, GdA— и Gd-Средиземноморский по какой-либо качественной характеристике (по электрофоретической подвижности, величине K_m , термостабильности, способности окислять 2-дезоксиглюкозо-6-фосфат, оптимуму pH и т. д.). Некоторые из этих характеристик суммированы в табл. 13. Для того чтобы достаточно полно охарактеризовать и идентифицировать данный вариант, необходимо исследовать значительное число различных его свойств.

Многие из вариантных фенотипов связаны с некоторой недостаточностью фермента, причины которой, вероятно, для разных вариантов различны. В некоторых случаях, как и в случае GdA— и Gd-Средиземноморский, главной причиной дефицита фермента, вероятно, служит пониженная стабильность ферментного белка. В других случаях он может быть следствием снижения каталитической активности за счет изменения структуры фермента.

Третья возможная причина недостатка фермента — снижение скорости синтеза ферментного белка аналогично снижению скорости синтеза гемоглобина при талассемии. Конечно, не исключено, что уровень активности может определяться сразу несколькими причинами.

Данные, приведенные в табл. 13, свидетельствуют о том, что, хотя во многих случаях наличие вариантного фермента связано с заметным уменьшением ферментативной активности, в других случаях изменение активности очень невелико, а иногда и совсем не наблюдается. Кроме того, по крайней мере для одного варианта ($Gd_{\text{Гектоен}}$) отмечено заметное увеличение активности. Таким образом, здесь возможен очень широкий диапазон колебаний.

Нужно отметить, что присутствие определенных вариантов связано с хроническими формами гемолитической анемии (так называемая несфероцитарная гемолитическая болезнь), которые наблюдаются даже в отсутствие обычных стимулирующих факторов — лекарственных препаратов, некоторых пищевых продуктов (конские бобы), инфекции. Однако при наличии некоторых других вариантов (например, $Gd_{\text{Средиземноморский}}$) хроническая гемолитическая болезнь не отмечается, несмотря на то что активность фермента в эритроцитах может быть крайне низкой или вообще отсутствовать. Вероятно, в большинстве случаев эффект определяется кинетическими свойствами ферментов и тем, как эти свойства влияют на функции эритроцитов *in vivo*. Например, при использовании обычных методов определения в гемолизатах $Gd_{\text{Оклахома}}$ отмечается несколько более высокая активность фермента, чем в гемолизатах $Gd_{\text{Средиземноморский}}$ (табл. 13). Однако первая аномалия сопровождается хронической гемолитической болезнью, а вторая — нет. Возможное объяснение состоит в том, что величина K_m для $Gd_{\text{Оклахома}}$ с глюкозо-6-фосфатом гораздо выше, чем величина K_m в случае $Gd_{\text{Средиземноморский}}$. При стандартном методе определения активности поддерживается относительно высокая концентрация глюкозо-6-фосфата; это нужно для того, чтобы насытить фермент и обеспечить максимальную скорость реакции. Однако в эритроцитах концентрация глюкозо-6-фосфата много меньше; вероятно, она близка к величине K_m или даже ниже. Как явствует из графиков, приведенных на фиг. 55 [332], скорость реакции в эритроцитах $Gd_{\text{Оклахома}}$ действительно может быть значительно ниже, чем в эритроцитах $Gd_{\text{Средиземноморский}}$, несмотря на то что соотношение активностей, определяемых в системе с высокими концентрациями глюкозо-6-фосфата, оказывается обратным.

4. Гипотеза Лайон

Поскольку локус Г-6-ФД находится в X-хромосоме, в клетках женщин он представлен дважды (XX), а в клетках мужчин — только один раз (XY). Тем не менее в норме средний уровень ак-

ТАБЛИЦА 13
Варианты глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

Вариант	Активность в эритроцитах, (% нормы)	Электрофоретическая подвижность по сравнению с нормальной (рН 7,0 или 8,6)	K_m для глюкозо-6-фосфата, мкМ	K_m для НАДФ, мкМ	Использование 2-дезоксиглюкозо-6-фосфата по сравнению с глюкозо-6-фосфатом	Термостабильность	Кривая «активность—рН»	Распространенность	Источник данных
Нормальный (Gd B)	100	—	50...78	2,9...4,4	<4%	—	Имеется плато	Самый обычный тип, повсеместно	
1. Гектоен	400	Высокая (рН 6,5)	Нормальная	Нормальная	Норма	Нормальная	Обычной формы	Редкий тип	[136]
2. Медисон	100	Низкая	?	?	?	?	?	То же	[461]
3. А	90	Высокая	Нормальная	Нормальная	То же	Нормальная	Обычной формы	Обычен у негров	[72, 335]
4. Балтимор-Остин	75	Низкая	То же	То же	» »	То же	То же	Редкий тип	[401]
5. Мадрона	70...80	То же	Ниже нормы (32)	» »	» »	?	» »	То же	[262]
6. Ибадан-Остин	72	» »	Нормальная	» »	» »	Нормальная	» »	» »	[401]
7. Барбиери	40...60	Высокая	Выше нормы	Выше нормы	?	То же	?	» »	[420]
8. Керала	50	Низкая	Ниже нормы (23)	Ниже нормы (1,5)	Увеличенное (7,4)	» »	Бимодальная	» »	[23]
9. Тель-Хашомер	25...40	То же	То же (30...40)	?	Норма	» »	Слабо выраженная бимодальность	» »	[510]
10. Афины	25	» »	То же (16...19)	Нормальная	Увеличенное (10...15)	Несколько ниже нормы	То же	Обычен ■ Греции	[605]
11. Чикаго ¹⁾	9...26	Нормальная	Нормальная	Нормальная	Норма	Намного ниже нормы	Обычной формы	Редкий тип	[338]
12. Сиэтл	8...21	Низкая	Ниже нормы (15...25)	Ниже нормы (2,4...2,8)	Увеличенное (7...11)	Нормальная	Слабо выраженная бимодальность	То же	[340]
13. А—	8...20	Высокая	Нормальная	Нормальная	Норма	То же	Обычной формы	Обычен у негров	[72, 335]
14. Кантон	4...24	То же	Ниже нормы (20...36)	Ниже нормы (2,0...2,4)	Увеличенное (4...15)	Несколько ниже нормы	Бимодальная	Обычен ■ Юго-Восточной Азии	[411]
15. Западный Бенгал	9	Низкая	То же (31)	Выше нормы (6,6)	Норма	Нормальная	Обычной формы	Редкий тип	[23]
16. Огайо ¹⁾	2...16	Высокая	Несколько выше нормы	Несколько выше нормы	То же	Намного ниже нормы	?	То же	[498]
17. Оклахома ¹⁾	4...10	Нормальная	Выше нормы (127...200)	Выше нормы (20)	» »	Ниже нормы	Узкий пик	» »	[335]
18. Дуарте ¹⁾	8,5	То же	Нормальная	Нормальная	Увеличенное (5,4)	Немного ниже нормы	То же	» »	[53]
19. Средиземноморский	0...7	» »	Ниже нормы (18...26)	Ниже нормы (1,2...1,6)	Увеличенное (23...27)	Ниже нормы	Бимодальная	Обычен ■ средиземноморских странах и на Ближнем Востоке	[339]
20. Альбукерке ¹⁾	1	» »	Выше нормы (115)	Выше нормы (11)	Норма	Намного ниже нормы	Узкий пик	Редкий тип	[53]
21. Эйссен ¹⁾	0	Низкая	?	?	?	То же	?	То же	[72]

1) Вариант, связанный с врожденной гемолитической болезнью.

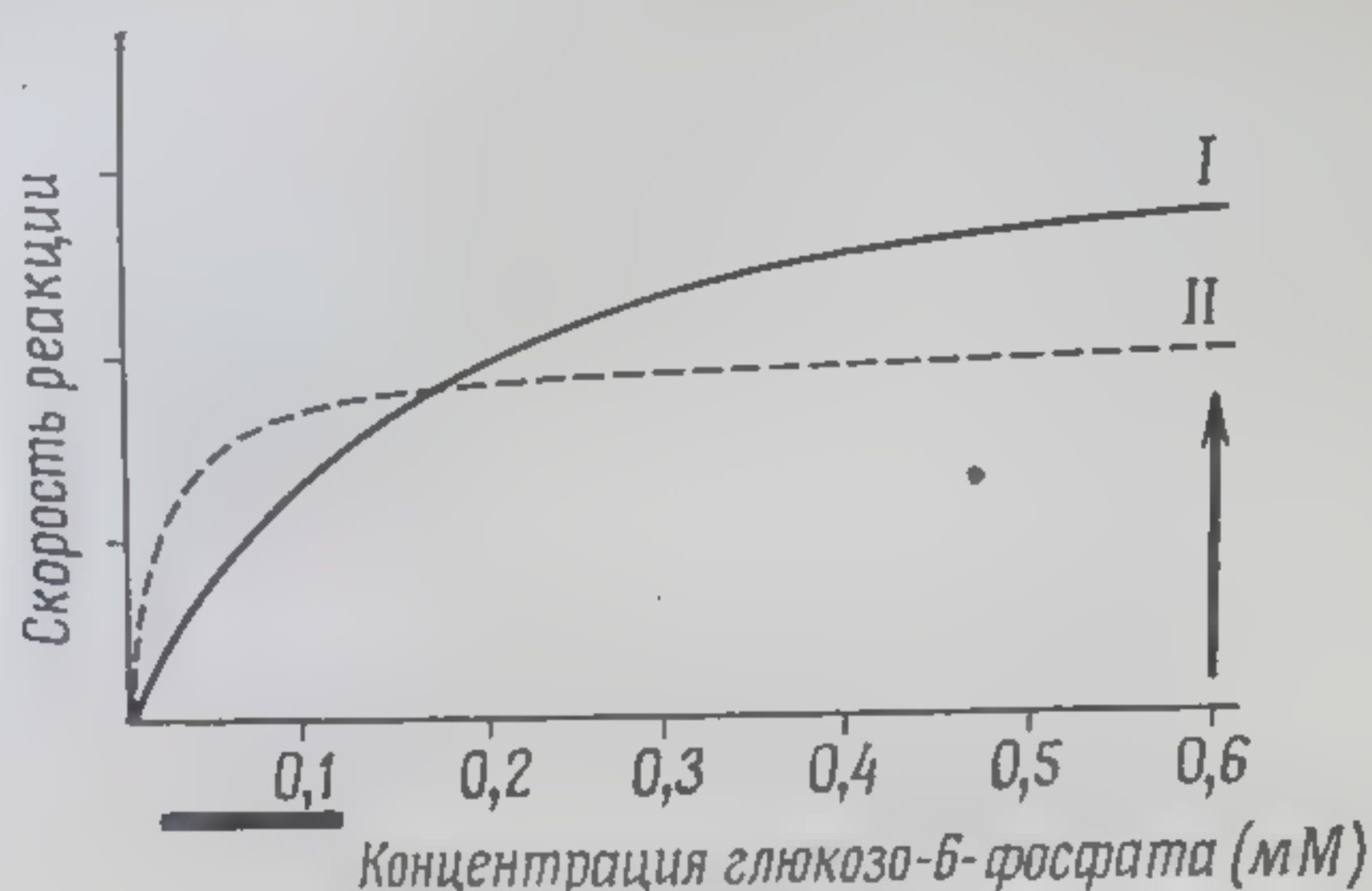
ТАБЛИЦА 13
Варианты глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

Вариант	Активность в эритроцитах, (% нормы)	Электрофоретическая подвижность по сравнению с нормальной (рН 7,0 или 8,6)	K_m для глюкозо-6-фосфата, мкМ	K_m для НАДФ, мкМ	Использование 2-дезоксиглюкозо-6-фосфата по сравнению с глюкозо-6-фосфатом	Термостабильность	Кривая «активность—рН»	Распространенность	Источник данных
Нормальный (Gd B)	100	—	50...78	2,9...4,4	<4%	—	Имеется плато	Самый обычный тип, повсеместно	
1. Гектоен	400	Высокая (рН 6,5)	Нормальная	Нормальная	Норма	Нормальная	Обычной формы	Редкий тип	[136]
2. Медисон	100	Низкая	?	?	?	?	?	То же	[461]
3. А	90	Высокая	Нормальная	Нормальная	То же	Нормальная	Обычной формы	Обычен у негров	[72, 335]
4. Балтимор-Остин	75	Низкая	То же	То же	» »	То же	То же	Редкий тип	[401]
5. Мадрона	70...80	То же	Ниже нормы (32)	» »	» »	?	» »	То же	[262]
6. Ибадан-Остин	72	» »	Нормальная	» »	» »	Нормальная	» »	» »	[401]
7. Барбиери	40...60	Высокая	Выше нормы	Выше нормы	?	То же	?	» »	[420]
8. Керала	50	Низкая	Ниже нормы (23)	Ниже нормы (1,5)	Увеличенное (7,4)	» »	Бимодальная	» »	[23]
9. Тель-Хашомер	25...40	То же	То же (30...40)	?	Норма	» »	Слабо выраженная бимодальность	» »	[510]
10. Афины	25	» »	То же (16...19)	Нормальная	Увеличенное (10...15)	Несколько ниже нормы	То же	Обычен в Греции	[605]

11. Чикаго ¹⁾	9...26	Нормальная	Нормальная	Нормальная	Норма	Нормальная	Обычной формы	Редкий тип	[136]
12. Сентл	8...21	Низкая	Ниже нормы (15...25)	Ниже нормы (2,4...2,8)	Увеличенное (7...11)	Нормальная	Слабо выраженная бимодальность	То же	[461]
13. А—	8...20	Высокая	Нормальная	Нормальная	Норма	То же	Обычной формы	Обычен у негров	[72, 335]
Кантон	4...24	То же	Ниже нормы (20...36)	Ниже нормы (2,0...2,4)	Увеличенное (4...15)	Несколько ниже нормы	Бимодальная	Обычен	[605]

11. Чикаго ¹⁾	9...26	Нормальная	Нормальная	Нормальная	Норма	Намного ниже нормы	Обычной формы	Редкий тип	[338]
12. Сиэтл	8...21	Низкая	Ниже нормы (15...25)	Ниже нормы (2,4...2,8)	Увеличенное (7...11)	Нормальная	Слабо выра- женная би- модальность	То же	[340]
13. А—	8...20	Высокая	Нормальная	Нормальная	Норма	То же	Обычной формы	Обычен у негров	[72, 335]
14. Кантон	4...24	То же	Ниже нормы (20...36)	Ниже нормы (2,0...2,4)	Увеличенное (4...15)	Несколько ниже нормы	Бимодальная	Обычен в Юго-Восточ- ной Азии	[411]
15. Западный Бенгал	9	Низкая	То же (31)	Выше нормы (6,6)	Норма	Нормальная	Обычной формы	Редкий тип	[23]
16. Огайо ¹⁾	2...16	Высокая	Несколько выше нормы	Несколько выше нормы	То же	Намного ниже нормы	?	То же	[498]
17. Оклахома ¹⁾	4...10	Нормальная	Выше нормы (127...200)	Выше нормы (20)	» »	Ниже нормы	Узкий пик	» »	[335]
18. Дуарте ¹⁾	8,5	То же	Нормальная	Нормальная	Увеличенное (5,4)	Немного ниже нормы	То же	» »	[53]
19. Средиземно- морский	0...7	» »	Ниже нормы (18...26)	Ниже нормы (1,2...1,6)	Увеличенное (23...27)	Ниже нормы	Бимодальная	Обычен в средизем- номорских странах и на Ближнем Востоке	[339]
20. Альбукерке ¹⁾	1	» »	Выше нормы (115)	Выше нормы (11)	Норма	Намного ниже нормы	Узкий пик	Редкий тип	[53]
21. Эйссен ¹⁾	0	Низкая	?	?	?	То же	?	То же	[72]

1) Вариант, связанный с врожденной гемолитической болезнью.

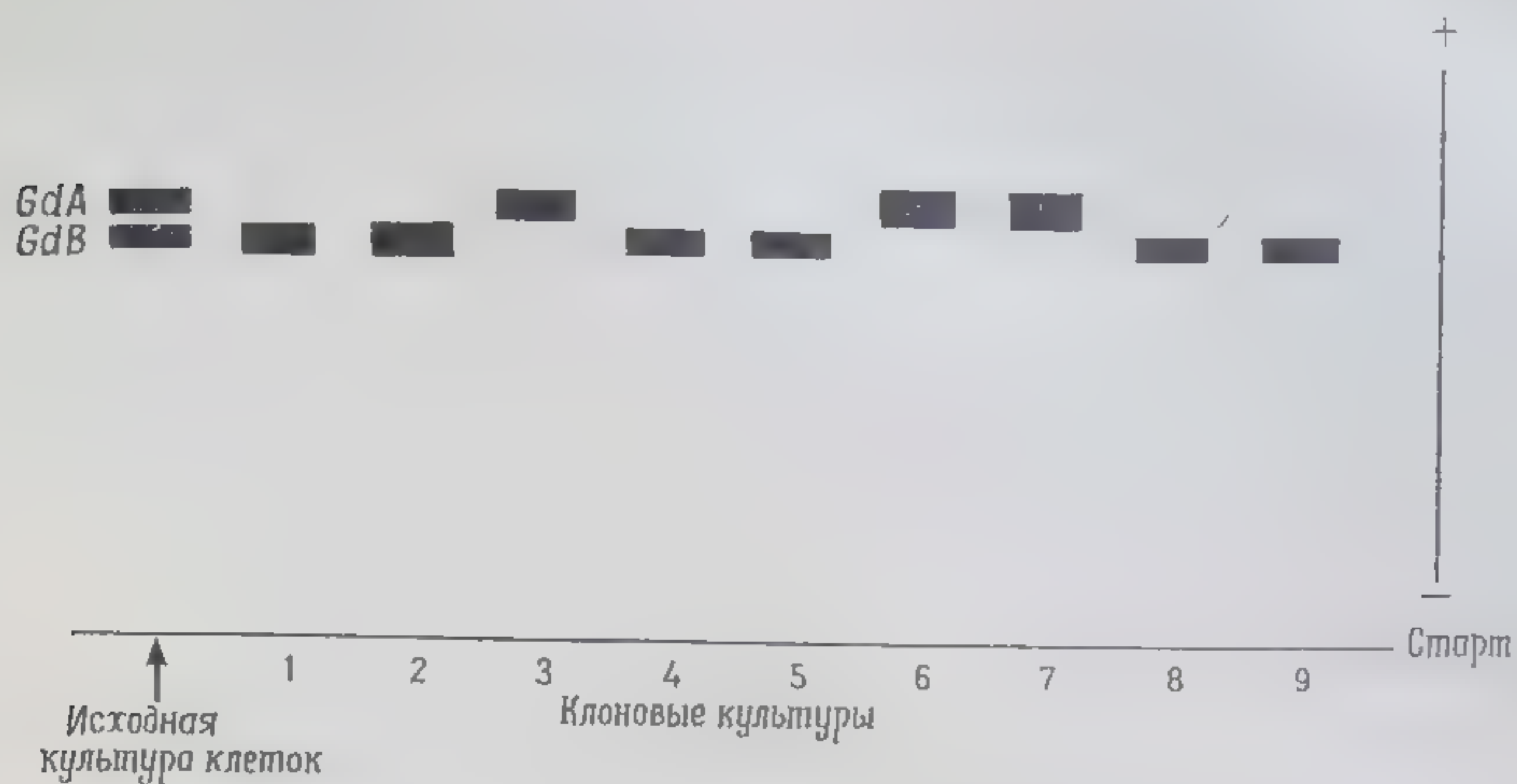


Ф и г. 55. Зависимость скорости реакции от концентрации глюкозо-6-фосфата для двух вариантов глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы [332].

I — Gd-Оклахома ($K_m = 140$ мкМ); II — Gd-Средиземноморский ($K_m = 18$ мкМ). Кривые построены таким образом, что относительные скорости при стандартной концентрации глюкозо-6-фосфата (указана стрелкой) пропорциональны удельным активностям гемолизатов. Жирная линия под осью абсцисс показывает пределы внутриклеточных концентраций глюкозо-6-фосфата.

тивности Г-6-ФД у женщин в основном не отличается от уровня активности у мужчин [419]. Кроме того, тот же средний уровень активности наблюдается у индивидуумов с аномальным числом X-хромосом, например у мужчин с синдромом Клайнфельтера (XXY) и у женщин с набором XXX, если только они не несут какой-нибудь аллель, определяющий недостаточность Г-6-ФД [214, 229]. Таким образом, число генов Г-6-ФД у индивидуума не влияет на уровень активности фермента.

Это явление выравнивания эффекта генов, сцепленных с X-хромосомой, у обоих полов называют иногда компенсацией дозы. Вероятно, компенсация дозы происходит для большинства локусов X-хромосомы, не имеющих отношения к половой дифференцировке. Гипотеза, объясняющая это явление (по крайней мере у млекопитающих), была предложена Лайон [405], а также Бейтлером и др. [54]. Эта гипотеза предполагает, что в любой клетке женского организма в функционально активном состоянии находится только одна из двух X-хромосом. Эта X-хромосома может быть получена либо от матери, либо от отца, причем в общем одна из них будет активной в одних, а вторая — в других клетках. В то же время у мужчин единственная X-хромосома функционально активна во всех клетках. Следовательно, в каждой соматической клетке как мужчин, так и женщин функционально активной будет только одна доза любого из генов X-хромосомы. Таким образом достигается компенсация дозы гена. Предполагается, что инактивация той или другой X-хромосомы в клетках женщины происходит более или менее случайно, причем на очень ранних стадиях эмбрионального развития. Считается также, что коль скоро X-хромосома в данной клетке инактивировалась, во всех дочерних клетках будет инактивирована та же X-хромосома. Согласно этой ги-



Ф и г. 56. Электрофоретическое разделение компонентов глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы в разрушенных ультразвуком культурах клеток, взятых у гетерозиготной женщины с генотипом $Gd^A Gd^B$ [129].

В исходной культуре содержались два компонента — Gd^A и Gd^B . Однако клоны, полученные из клеток этой культуры, обладают либо Gd^A либо Gd^B , но не обоими сразу.

потезе, женщин можно рассматривать как мозаиков: примерно в половине клеток будет активна только X-хромосома, полученная от отца, а в остальных клетках — только X-хромосома, полученная от матери.

Для того чтобы непосредственно проверить эту гипотезу, нужно обследовать женщин, гетерозиготных по двум аллелям локуса X-хромосомы, определяющего структуру какого-либо ферментного или иного белка. В разных клетках функционально активная хромосома будет нести либо один, либо другой аллель, так что в одних клетках будет синтезироваться одна форма фермента, а в других — другая, и никогда обе сразу. Исследование гетерозигот по аллелям, определяющим варианты Г-6-ФД, показало, что, по-видимому, именно так и обстоит дело.

Особенно убедительно это явление было продемонстрировано в экспериментах с клетками кожи в культуре; эксплантат был получен от гетерозиготной негритянки с генотипом $Gd^B Gd^A$ [129]. При электрофоретическом исследовании Г-6-ФД в клонах клеток, выращенных в культуре, было обнаружено, что некоторые клоны содержат только фермент А, а другие — только фермент В, и ни один из клонов не содержит оба фермента сразу (фиг. 56). Вместе с тем в культуре ткани, полученной из эксплантата кожи гетерозиготной женщины, в общем могут содержаться как клоны А, так и клоны В. Таким образом, в организме женщин имеются, очевидно, две различные популяции клеток, одна из которых синтезирует только фермент А, а другая синтезирует только фермент В.

Аналогичные эксперименты были проведены на культурах клеток, взятых у женщин с генотипом $Gd^B Gd^{Mediterranean}$. В этом слу-

чае легко удавалось различить два типа клонов. В одном уровень ферментативной активности был примерно таким же, что и уровень активности в культуре клеток, взятых у мужчины с генотипом Gd^B (с нормальной активностью фермента), а в другом уровень активности был значительно ниже, как это характерно для клеток мужчины с генотипом $Gd^{Mediterranean}$. В этом случае опять-таки имелось две биохимически различные популяции клеток, которые удается идентифицировать в культурах клеток, выделенных от гетерозиготного индивидуума.

Исследования эритроцитов гетерозиготных негритянок с генотипом $Gd^B Gd^A$ показали, что и в этом случае также имеется две биохимически различные популяции клеток [50]. Аналогичные данные были получены при изучении свойств фермента в небольших биопсийных препаратах кожи и в единичных опухолях (лейомиом) гетерозигот с генотипом $Gd^B Gd^A$ [394, 395].

Таким образом, постулат, согласно которому в любой данной клетке женщины в функционально активном состоянии находится только один из двух аллелей локуса X-хромосомы, по-видимому, справедлив для локуса Г-6-ФД. Аналогичные результаты получены также для другого сцепленного с X-хромосомой фермента — гипоксантин: гуанин — фосфорибозилтрансферазы. Имеется также большое число косвенных данных в пользу того, что этот феномен действительно имеет общий характер [427, 536, 541]. Не известно точно, как именно осуществляется инактивация генов в одной из двух хромосом и как она распространяется от одного поколения клеток к другим.

IV. КИСЛАЯ ФОСФАТАЗА ЭРИТРОЦИТОВ

Количественная и качественная вариабельность сывороточной холинэстеразы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы была обнаружена при изучении некоторых клинически проявляющихся видов патологий; во-первых, повышенной чувствительности к мышечному релаксанту суксаметонию и, во-вторых, гемолитической анемии, вызываемой некоторыми лекарственными препаратами, и фавизма. Оказалось, что в обоих случаях недостаточность ферментов обусловлена присутствием в организме качественно различающихся вариантных форм этих ферментов. С кислой фосфатазой эритроцитов дело обстоит по-другому. Наследуемая количественная изменчивость была обнаружена для этого фермента в результате прямых поисков, ставивших целью обнаружение достаточно широко распространенных структурных вариантов фермента у здоровых индивидуумов (стр. 235—237).

Этот фермент, обладающий фосфорилазной и фосфотрансферазной активностью и низким оптимумом pH, вероятно, характерен для эритроцитов; по некоторым свойствам он четко отличается от кислых фосфатаз, обнаруживаемых в других тканях. Точная

Фиг. 57. Электрофорез

электрофорез в крахмале

субстрата: внизу — в фосфате

активности в различных буф-

тах В и двух т

метаболическая ф

вестна; какие-либ

ческим дефектом э

1. Варианты, разл

по электрофорети

При электроф

эритроцитов у р

более различных

индивидуумов ра

изоферментов [2

личных фенотипо

ма электрофоре

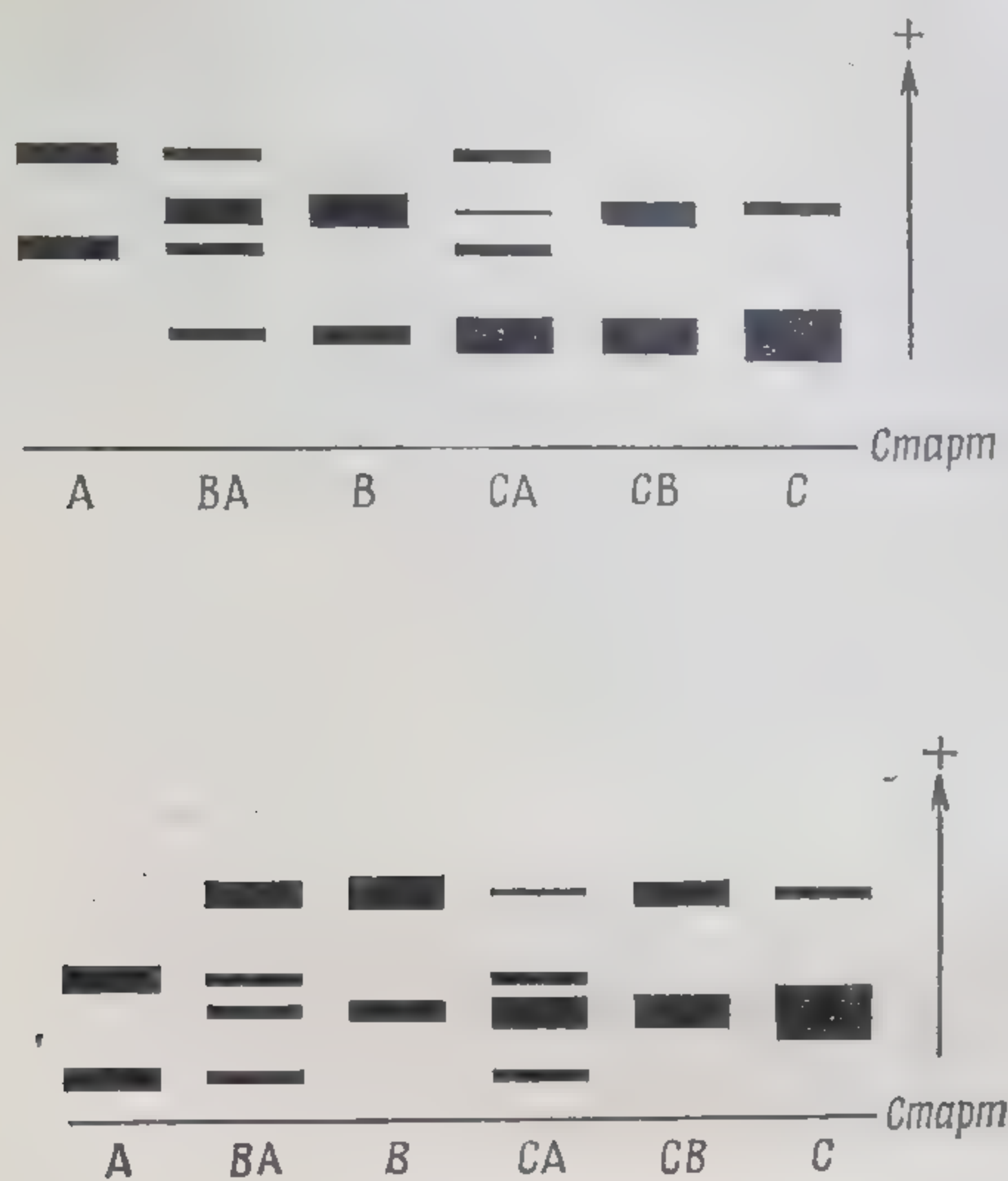
фатазы этих 6

около 13%

36% — к типу

600 — к типу

10—843



Ф и г. 57. Электрофоретическое разделение кислой фосфатазы эритроцитов индивидуумов с различным фенотипом.

Электрофорез в крахмальном геле при pH 6,0. Вверху — в цитратно-фосфатной буферной системе; внизу — в фосфатном буфере. Заметьте, что два типа изоферментов А имеют подвижность в различных буферных системах, отличную от подвижности двух типов изоферментов В и двух типов изоферментов С. Детали метода см. в работе [266].

метаболическая функция кислой фосфатазы в эритроцитах неизвестна; какие-либо клинические аномалии, связанные со специфическим дефектом этого фермента, не выявлены.

1. Варианты, различающиеся по электрофоретическим свойствам

При электрофоретическом исследовании кислой фосфатазы эритроцитов у разных людей, как правило, выявляются два или более различных компонента, или изофермента, причем разные индивидуумы различаются между собой по распределению этих изоферментов [267, 268]. У европейцев удается выделить 6 различных фенотипов, которые обозначают А, ВА, В, СА, СВ и С. Схема электрофоретического разделения изоферментов кислой фосфатазы этих 6 типов представлена на фиг. 57. Среди европейцев около 13% населения относится к типу А, 43% — к типу ВА, 36% — к типу В, 3% — к типу СА, 5% — к типу СВ и около 1 на 600 — к типу С.

Обследование семей показало, что все эти типы кислой фосфатазы эритроцитов детерминированы генетически. Характер расщепления по этим типам ферментов у потомства от различных возможных браков легче всего объяснить, исходя из предположения, что они определяются тремя обычными аутосомными аллелями: P^a , P^b и P^c . Фенотипы А, В и С соответствуют гомозиготным генотипам P^aP^a , P^bP^b и P^cP^c , а типы ВА, СА и СВ — гетерозиготным генотипам P^aP^b , P^aP^c и P^bP^c . В табл. 14 представлены некоторые типичные данные, полученные при обследовании семей. Можно видеть, что они хорошо согласуются с законами Менделя.

ТАБЛИЦА 14

Распределение фенотипов кислой фосфатазы эритроцитов
(данные обследования 440 семей ■ Англии [228])

Тип брака	Число браков	Распределение потомства по указанным фенотипам						
		А	ВА	В	СА	СВ	С	Всего
А×А	13	22	—	—	—	—	—	22
А×ВА	50	65	48	—	—	—	—	113
А×В	27	—	65	—	—	—	—	65
А×СА	6	4	—	—	5	—	—	9
А×СВ	10	—	5	—	14	—	—	19
ВА×ВА	94	40	91	54	—	—	—	185
ВА×В	109	—	106	96	—	—	—	202
ВА×СА	16	14	9	—	6	4	—	33
ВА×СВ	16	—	10	7	6	10	—	33
В×В	55	—	—	141	—	—	—	141
В×СА	12	—	12	—	—	20	—	32
В×СВ	24	—	—	33	—	25	—	58
СА×СВ	5	—	2	—	2	3	1	8
СВ×СВ	3	—	—	0	—	4	1	5
Всего	440	145	348	331	33	66	2	925

Различные фенотипы отличаются друг от друга по электрофоретической подвижности, по относительной активности и по числу присутствующих изоферментов. У гомозигот А, В и С имеется по два характерных изофермента. Два изофермента гомозигот А отличаются по электрофоретической подвижности от каждого из изоферментов гомозигот В и С. Кроме того, изоферменты типа А имеют примерно одинаковую активность, тогда как в типах В и С два

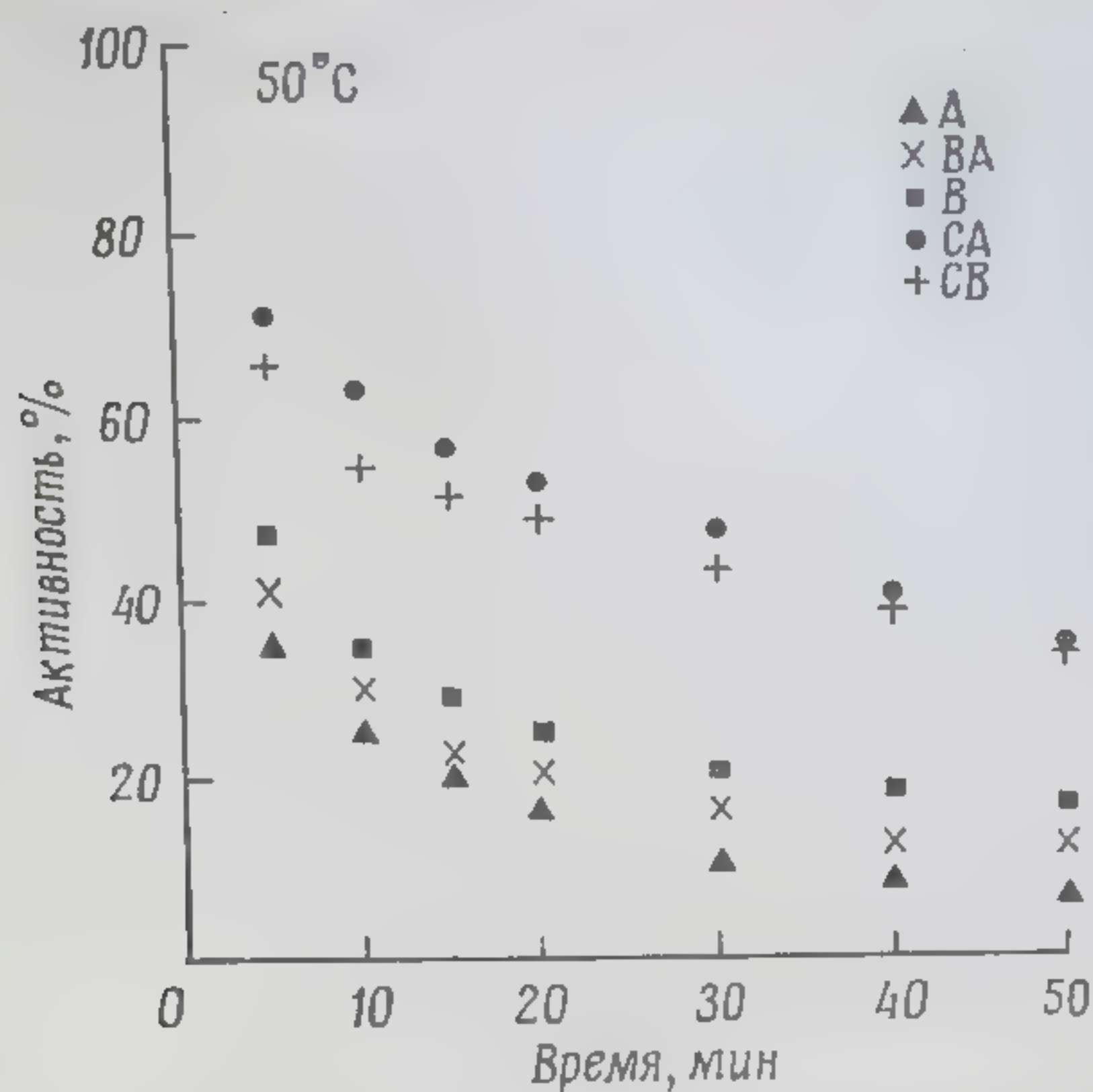
Фиг. 58. Сравнен

Средние величины ост

изофермента за
чае типа В акти
значительно вы
как для типа С
изоферментов
сложностью; по
рактрных для с
ты присутствую
указаний на об

Исследования
свойств кислой
бых различий
му бы типу они
массу [402]. О
стабильности
ность изоферме
а в пределах к
мент, видимо,
402].

Природа стр
кислой фосфат
известна. Мож
одни от друго
кодирует особ
сводиться к з
10*



Ф и г. 58. Сравнение термостабильности различных типов кислой фосфатазы эритроцитов.

Средние величины остаточной активности фермента после прогрева при 50 °С в течение различного времени [402].

изофермента заметно различаются по своей активности. Так, в случае типа В активность быстро движущегося к аноду изофермента значительно выше, чем активность медленного изофермента, тогда как для типа С отмечается обратное соотношение. Распределение изоферментов у гетерозигот ВА, СА и СВ отличается большей сложностью; по-видимому, у них имеется смесь изоферментов, характерных для соответствующих гомозигот, причем эти изоферменты присутствуют примерно в равных пропорциях. Нет никаких указаний на образование у гетерозигот гибридных изоферментов.

Исследования субстратной специфичности и кинетических свойств кислой фосфатазы разных типов не выявили никаких особых различий [402, 563]. По-видимому, все изоферменты, к какому бы типу они ни относились, имеют одинаковую молекулярную массу [402]. Однако обнаружены значительные отличия в термостабильности (фиг. 58). В общем относительная термостабильность изоферментов различных типов убывает в порядке $C > B > A$, а в пределах каждого типа быстрее движущийся к аноду изофермент, видимо, несколько менее стабилен, чем медленный [174, 402].

Природа структурных различий, отмечаемых для разных типов кислой фосфатазы, которые определяются разными аллелями, не известна. Можно предположить, что разные аллели произошли один от другого в результате единичных мутаций; каждый из них кодирует особую полипептидную цепь, причем различия могут сводиться к замене всего одной аминокислоты. Предполагается

также, что оба изоферментных белка, определяемых каждым данным аллелем, построены из одинаковых полипептидных цепей, поскольку у мутантных форм оба они модифицированы одинаковым, весьма характерным образом. Однако молекулярные основы образования каждым аллелем двух изоферментов совершенно неясны. Изоферменты не различаются по молекулярной массе, и нет никаких данных, которые свидетельствовали бы о том, что они содержат более одной полипептидной цепи, хотя такую возможность нельзя полностью исключить. Вероятно, они представляют собой конформационные изомеры или же образуются в результате вторичных модификаций специфичного полипептида, кодируемого данным аллелем, уже после того, как синтез полипептидной цепи завершен. Межаллельные различия предполагают не просто различия в заряде молекулы, который, кстати, по-видимому, для каждой пары изоферментов одинаков, но также значительную разницу в относительной активности, характерной для каждого аллеля. Так, если два изоферментных белка, определяемых аллелем P^a , обладают примерно одинаковой активностью, то изоферменты, соответствующие аллелям P^b и P^c , сильно различаются по активности: в случае аллеля P^b более активен «быстрый» изофермент, а в случае P^c — «медленный».

Было обнаружено несколько фенотипов кислой фосфатазы эритроцитов помимо тех шести, о которых шла речь выше [195, 322]. Они, по-видимому, представляют собой гетерозиготные комбинации редкого аллеля с каким-либо из трех обычных аллелей (P^a , P^b или P^c). Каждый новый редкий аллель также ответствен за появление двух новых изоферментных белков, обладающих иными (по сравнению с уже известными белками) свойствами.

2. Количественные различия

Итак, каждый аллель определяет формы фермента, различающиеся по своей структуре. Как явствует из результатов определения общей активности кислой фосфатазы эритроцитов у людей разных фенотипов, эти структурные различия сопровождаются различиями в активности [602].

Типичные данные представлены в табл. 15. Хотя вариации активности в пределах одного фенотипа весьма значительны, тем не менее различия в средних уровнях активности между разными фенотипами заметно выражены. В среднем в эритроцитах индивидуума фенотипа В уровень активности примерно в 2 раза выше, чем у индивидуума фенотипа А, тогда как у людей фенотипа АВ отмечается промежуточный уровень активности фермента. Аналогично активность кислой фосфатазы эритроцитов у людей фенотипа СВ в среднем выше, чем у людей фенотипа СА или В.

Используя подобные данные, можно решить вопрос, являются ли количественные эффекты трех аллелей аддитивными или нет.

Если они аддитивны:
тогда:

где \bar{A} , \bar{B} , \bar{C} и т.
пов. Можно видеть
хорошо согласуются

Эти результаты
согласно которым
собой простую
соответствующую
Эти исследования
общий интерес.
эритроцитов в с
чается по форме о
исследованиях. О
популяциях. О
общее распреде
рекрывающихся

ТАБЛИЦА 15

Средние уровни активности кислой фосфатазы эритроцитов
у индивидуумов с разным фенотипом [602]

Фенотип	Число обследованных индивидуумов	Средняя активность	Стандартное отклонение
A	33	122,4	16,8
BA	124	153,9	17,3
B	81	188,3	19,5
CA	11	183,8	19,8
CB	26	212,3	23,1

Если они аддитивны, то должны быть верными следующие соотношения:

$$\frac{1}{2} \bar{A} + \frac{1}{2} \bar{B} = \bar{BA}, \quad (a),$$

$$\bar{CA} - \frac{1}{2} \bar{A} = \bar{CB} - \frac{1}{2} \bar{B}, \quad (б),$$

где \bar{A} , \bar{BA} , \bar{B} и т. д. — средние величины для различных фенотипов. Можно видеть, что результаты, представленные в табл. 15, хорошо согласуются с представлением об аддитивности. Так,

$$\frac{1}{2} \bar{A} + \frac{1}{2} \bar{B} = 155,35 \text{ единиц},$$

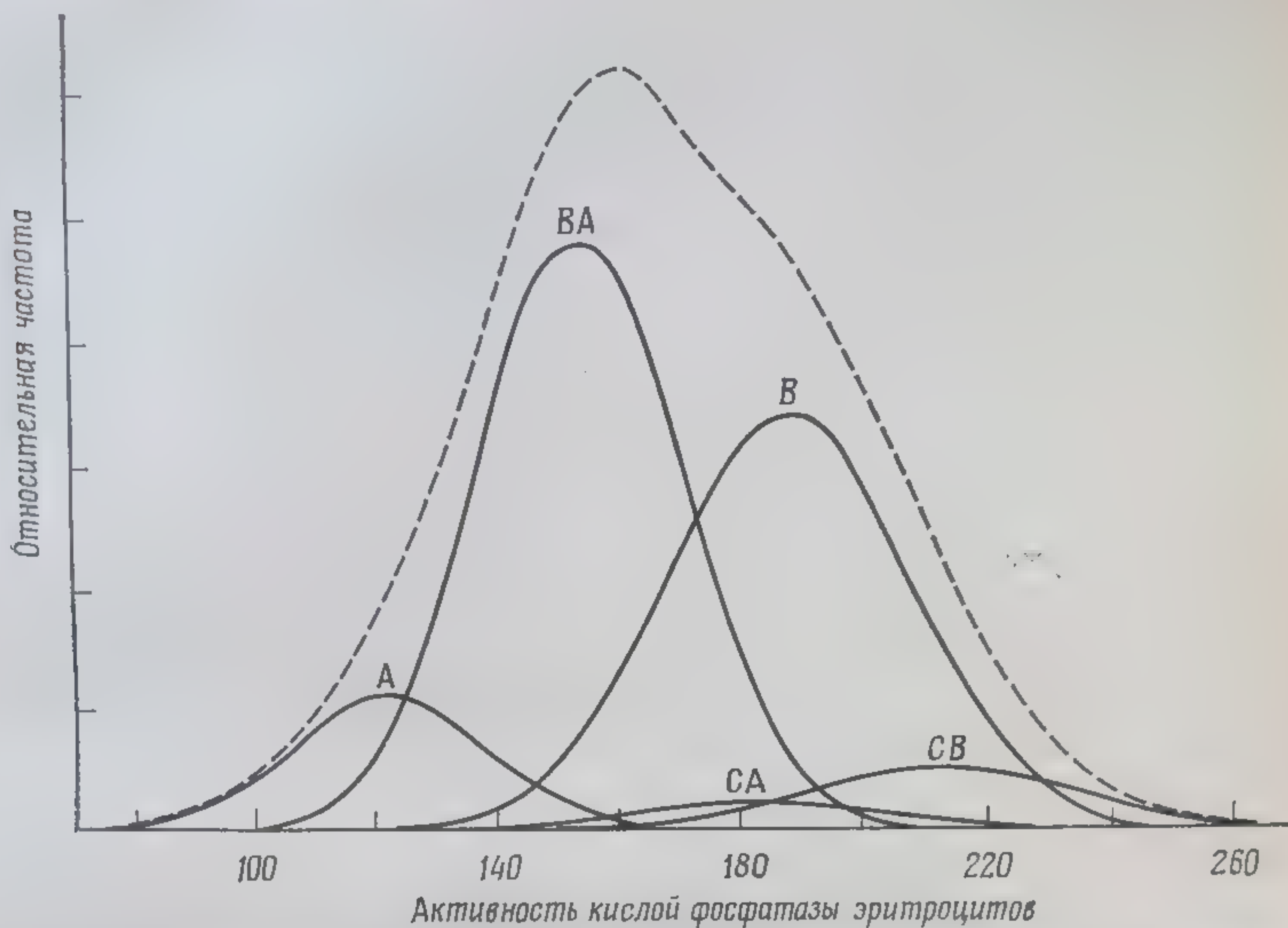
$$\bar{BA} = 153,9 \text{ единиц},$$

$$\bar{CA} - \frac{1}{2} \bar{A} = 122,6 \text{ единиц},$$

$$\bar{CB} - \frac{1}{2} \bar{B} = 118,15 \text{ единиц}.$$

Эти результаты согласуются с электрофоретическими данными, согласно которым набор изоферментов у гетерозигот представляет собой простую смесь в равных пропорциях изоферментов двух соответствующих гомозиготных типов.

Эти исследования выдвигают один вопрос, представляющий общий интерес. Если определять активность кислой фосфатазы эритроцитов в случайных выборках из общей популяции, то получается унимодальное непрерывное распределение, не отличающееся по форме от распределений, получаемых при количественных исследованиях многих других ферментов в случайно выбранных популяциях. Однако в случае щелочной фосфатазы очевидно, что общее распределение представляет сумму различающихся, но перекрывающихся распределений, соответствующих каждому из дис-



Ф и г. 59. Распределение уровней активности кислой фосфатазы эритроцитов в популяции в целом (пунктирная линия) и для отдельных фенотипов. Кривые построены на основании данных, представленных в табл. 15, с учетом известных величин частоты различных фенотипов среди населения Англии.

кретных фенотипов (фиг. 59). Далее, наличие вариантных распределений, отличных в основном от общего распределения, обусловлено эффектами трех встречающихся в популяции аллелей. Вероятно, количественная вариабельность других ферментов, для которых также наблюдается непрерывное и унимодальное распределение, может иметь аналогичную простую основу. Отсюда, между прочим, ясно, насколько труден часто генетический анализ количественной вариабельности ферментов в отсутствие других методов различения дискретных фенотипов.

Не известно, каким образом структурные различия между разными типами кислой фосфатазы, которые определяются разными аллелями, связаны с этими количественными различиями в активности. Возможно, какую-то роль играют различия в стабильности ферментов, поскольку обнаруженный порядок относительной термостабильности ($C > B > A$) совпадает с порядком уменьшения относительной активности фермента в эритроцитах индивидуумов различных фенотипов.

итроцитов
ипов.
известных ее.

распре-
обуслов-
й. Веро-
я кото-
ределе-
между
з коли-
х мето-

кду раз-
разными
и в ак-
стабиль-
ительной
еншения
видуумов

Гаррод установил, что если к пище больных с алкаптонурией добавить гомогентизиновую кислоту, то вся она выделяется с мочой, тогда как у здоровых людей она, по-видимому, очень быстро разлагается в процессе метаболизма. Он показал также, что вы-

Гаррод установил, что если к пище больных с алкаптонурией добавить гомогентизиновую кислоту, то вся она выделяется с мочой, тогда как у здоровых людей она, по-видимому, очень быстро разлагается в процессе метаболизма. Он показал также, что вы-

Гаррод установил, что если к пище больных с алкаптонурией добавить гомогентизиновую кислоту, то вся она выделяется с мочой, тогда как у здоровых людей она, по-видимому, очень быстро разлагается в процессе метаболизма. Он показал также, что вы-

деление гомогентизиновой кислоты возрастает, если в пище больных с алкаптонурией повысить содержание белка, и что это связано с присутствием в белке ароматических аминокислот — фенилаланина и тирозина, которые сами по себе также повышают выделение гомогентизиновой кислоты. Выведение с мочой гомогентизиновой кислоты усиливается и при приеме некоторых производных фенилаланина и тирозина, которые можно рассматривать как промежуточные продукты катаболизма последних.

На основании таких опытов Гаррод пришел к выводу, что гомогентизиновая кислота, хотя она никогда не обнаруживается в тканях, служит нормальным промежуточным продуктом катаболизма фенилаланина и тирозина и что у больных алкаптонурией основное нарушение заключается в неспособности расщеплять гомогентизиновую кислоту из-за отсутствия необходимого для этого фермента. Таким образом, он предположил, что у здоровых людей гомогентизиновая кислота может встречаться лишь в следовых количествах, поскольку она распадается так же быстро, как и образуется. В то же время у больных алкаптонурией гомогентизиновая кислота не может разлагаться, вследствие чего этот метаболит накапливается в клетках печени, где в основном происходит соответствующий метаболический процесс, попадает в кровяное русло и выводится в больших количествах с мочой.

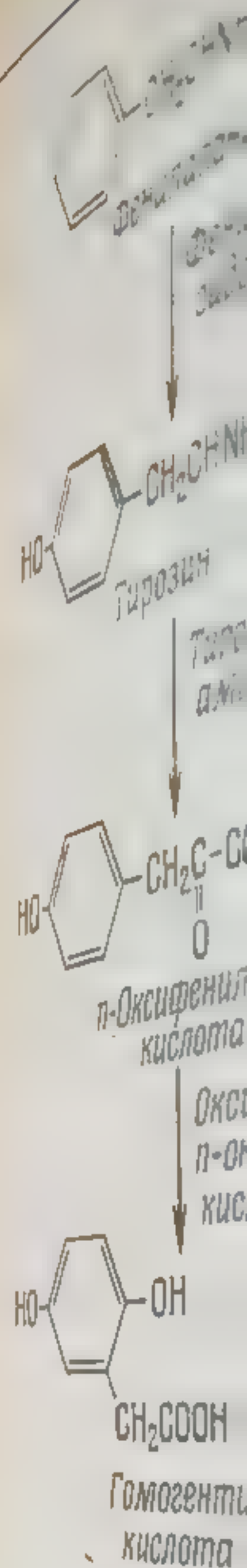
В то время не было решающего доказательства этой концепции, которое, естественно, должно состоять в прямой констатации отсутствия определенного фермента. Это доказательство было получено не ранее чем через 50 лет с небольшим, после того как стало возможным исследовать путем биопсии всю последовательность ферментов, участвующих в окислении тирозина (фиг. 60) в печени. Было установлено, что у больных алкаптонурией со-

ТАБЛИЦА 16

Активность ферментов окисления тирозина в ткани печени при алкаптонурии и в норме (по данным биопсии) [361]

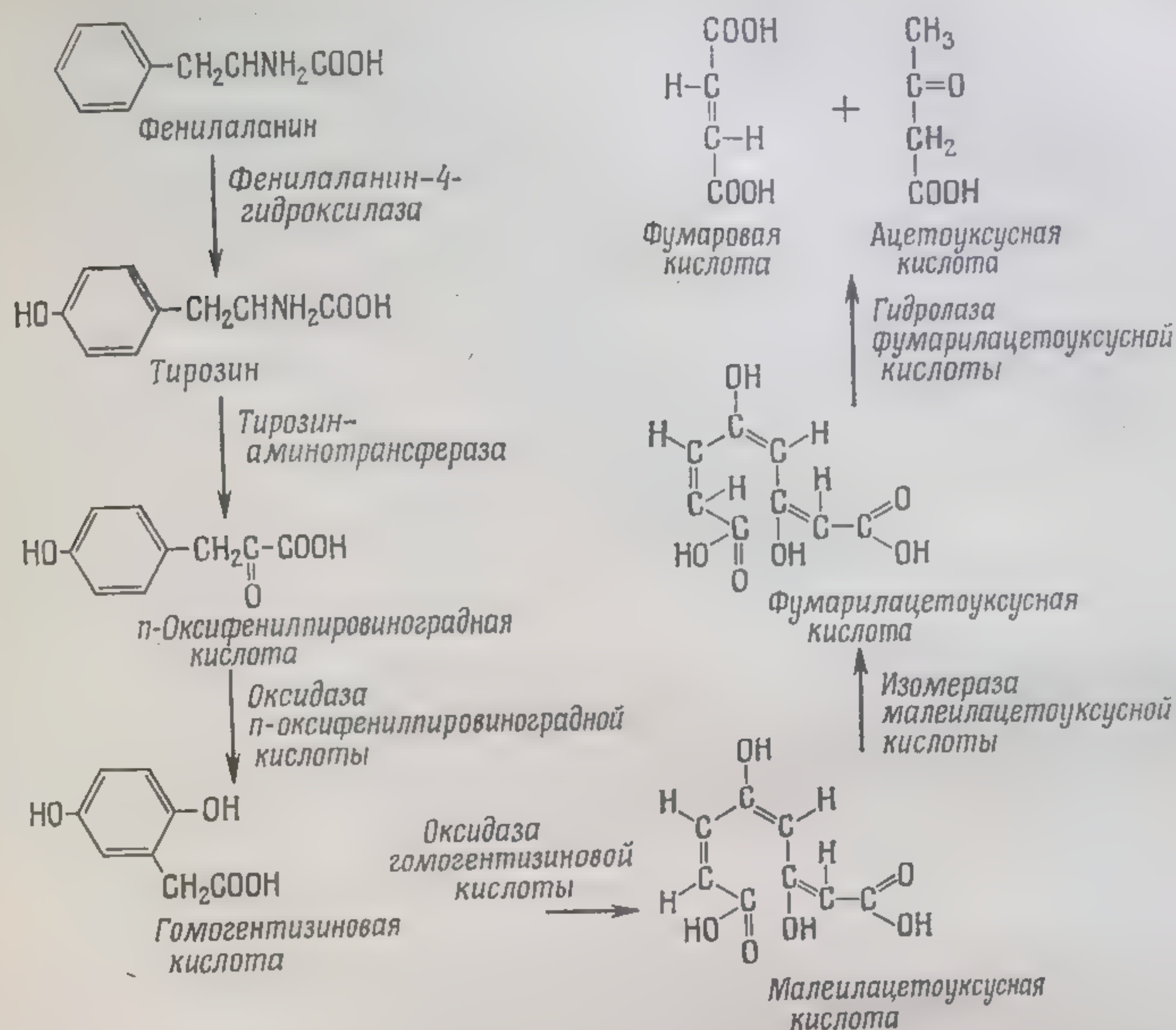
Фермент ¹⁾	Активность	
	в норме	при алкаптонурии
1. Тирозин—аминотрансфераза	3,6	3,2
2. Оксидаза <i>п</i> -оксифенилпировиноградной кислоты	6,7	4,6
3. Оксидаза гомогентизиновой кислоты	26,8	<0,0048
4. Изомераза малеилацетоуксусной кислоты	960	780
5. Гидролаза фумарилацетоуксусной кислоты	29	22

¹⁾ Активность ферментов 1, 2, 3 и 5 выражена в мкмольх субстрата, окисленного за 1 ч на 0,1 г сырой массы печени. Активность фермента 4 выражена как изменение (Δ) логарифма оптической плотности за 1 ч на 0,1 г сырой массы печени.



Фиг. 60. Ферментативный катализ превращения тирозина в гомогентизиновую кислоту

содержание в тканях оксидазы гомогентизиновой кислоты превращает тирозин в гомогентизиновую кислоту. Этот фермент обнаружен у больных алкаптонурией, предложено название — гомогентизиновая оксидаза. Другая примечательная особенность — у больных алкаптонурией в печени обнаружены два или несколько родственных с алкаптонурией ферментов, делающих в природе забор из первых ген может быть



Ф и г. 60. Ферментативные реакции окисления фенилаланина и тирозина до ацетоуксусной кислоты [358].

держание в ткани печени всех этих ферментов, за исключением оксидазы гомогентизиновой кислоты, т. е. фермента, который катализирует превращение гомогентизиновой кислоты в малеилацетоуксусную кислоту [361], не отклоняется от нормы. Последний же фермент обнаружить не удалось (табл. 16). Таким образом, классическое объяснение биохимического механизма алкаптонурии, предложенное Гарродом, полностью подтвердилось.

Другая примечательная черта алкаптонурии, на которую Гаррод обратил внимание, заключается в семейном характере этой аномалии. Это очень редкое заболевание часто обнаруживается у нескольких членов одной семьи. Нередко пораженными оказываются два или несколько sibсов, хотя их родители, дети и другие родственники, по-видимому, вполне здоровы. Далее, родители больных с алкаптонурией нередко состоят в кровном родстве. Родословные при этом очень характерны, и Гаррод почти не колебался, делая вывод, что они свидетельствуют о наследственной природе заболевания. Он консультировался с Бэтсоном — одним из первых генетиков, который отметил, что наблюдаемая картина может быть легко объяснена исходя из законов Менделя, неза-

долго до того открытых повторно. Родословные были как раз таковы, как и следовало ожидать, если алкаптонурия определяется редким рецессивным менделирующим фактором, или, как говорят теперь, геном. Больные предположительно должны были быть гомозиготными по измененному гену. Это был первый случай так называемой «рецессивной наследственности», выявленный у человека.

Таким образом, Гаррод объяснил алкаптонурию врожденной недостаточностью в отношении какого-то определенного фермента, обусловленной наличием двойной дозы аномального менделирующего фактора, или гена. Из этого прямо следовал очень важный вывод, а именно что в организме для образования этого фермента должен присутствовать нормальный аллель соответствующего гена. Это было первым указанием на то, что гены оказывают свое действие в организме, управляя синтезом ферментов и других белков, — закономерность, которая в настоящее время стала общепринятой.

Гаррод рассматривал врожденные нарушения как состояния, при которых из-за отсутствия определенного фермента соответствующее звено в последовательности реакций (составляющее часть нормального метаболического пути) оказывается заблокированным. В результате этого метаболиты, непосредственно предшествующие заблокированной реакции, накапливаются, а метаболиты, которые должны были бы образоваться на последующих этапах, не образуются. Различные биохимические, патологические и клинические проявления такого состояния можно рассматривать как вторичные следствия этого первичного нарушения обмена. Такие вторичные изменения могут быть весьма сложными. Они могут затрагивать многие жизненные функции и, вообще говоря, зависят от природы и биохимической роли тех метаболитов, которые накапливаются, и тех, образование которых заторможено.

В настоящее время известен целый ряд различных нарушений, которые можно объяснить исходя из этого общего принципа. Они перечислены в приложении I. Хотя специфическая ферментная недостаточность выявлена в каждом из этих случаев, природа нарушений, лежащих в ее основе, выяснена лишь в очень немногих из них. В некоторых случаях механизм заключается в синтезе варианта ферментного белка с измененной структурой, у которого нарушены каталитические свойства. В других причиной дефекта может быть синтез структурного варианта фермента, который отличается крайней нестойкостью и вследствие этого быстро распадается в тканях. Наконец, в некоторых случаях может иметь место характерное подавление или полное прекращение синтеза ферментного белка.

Ферменты, затронутые при таких аномалиях, могут быть самыми разными. Весьма разнообразны также и обусловленные этими дефектами метаболические нарушения и их клинические

проявления — от
из разных статистиче
и таких, которые
генной отсталости
гемолитической бо
назы), до таких
но (например, алт
кой патологией (с
Ниже мы расс
болических наруш
сих дефектов фер

II. ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ

Фенилкетонурия — врожденным нарушением обмена веществ. Симптомы. Это заболевание описано Феллингом в 1934 году. Характерной особенностью является умственная отсталость, которая развивается с детства. В крови и моче обнаруживаются высокие концентрации фенилпировасмического азота (фенилкетона). Недостатком является образование тирозина из фенилаланина. При нормальном обмене фенилаланин превращается в тирозин, который входит в состав белков пищи. При фенилкетонурии этот процесс нарушен, и фенилаланин накапливается в крови и моче. Уровень фенилаланина в крови превышает норму в 30 раз и выше. Такое состояние приводит к развитию умственной отсталости.

Такое состояние приводит к развитию умственной отсталости. При этом в моче обнаруживаются высокие концентрации фенилпировасмического азота. Лечение заключается в ограничении потребления фенилаланина в пище. Другое лечение заключается в применении препаратов, снижающих уровень фенилаланина в крови.

проявления — от состояний, которые могут быть летальными уже на ранних стадиях развития (например, болезнь кленового сиропа), и таких, которые связаны со стойкой патологией, скажем, с умственной отсталостью (например, фенилкетонурия) или хронической гемолитической болезнью (например, недостаточность пируваткиназы), до таких, которые протекают относительно доброкачественно (например, алкаптонурия) или вообще не сопряжены ни с какой патологией (например, недостаточность фруктокиназы).

Ниже мы рассмотрим некоторые виды биохимических и метаболических нарушений, являющихся следствием таких специфических дефектов ферментов, и их клинические проявления.

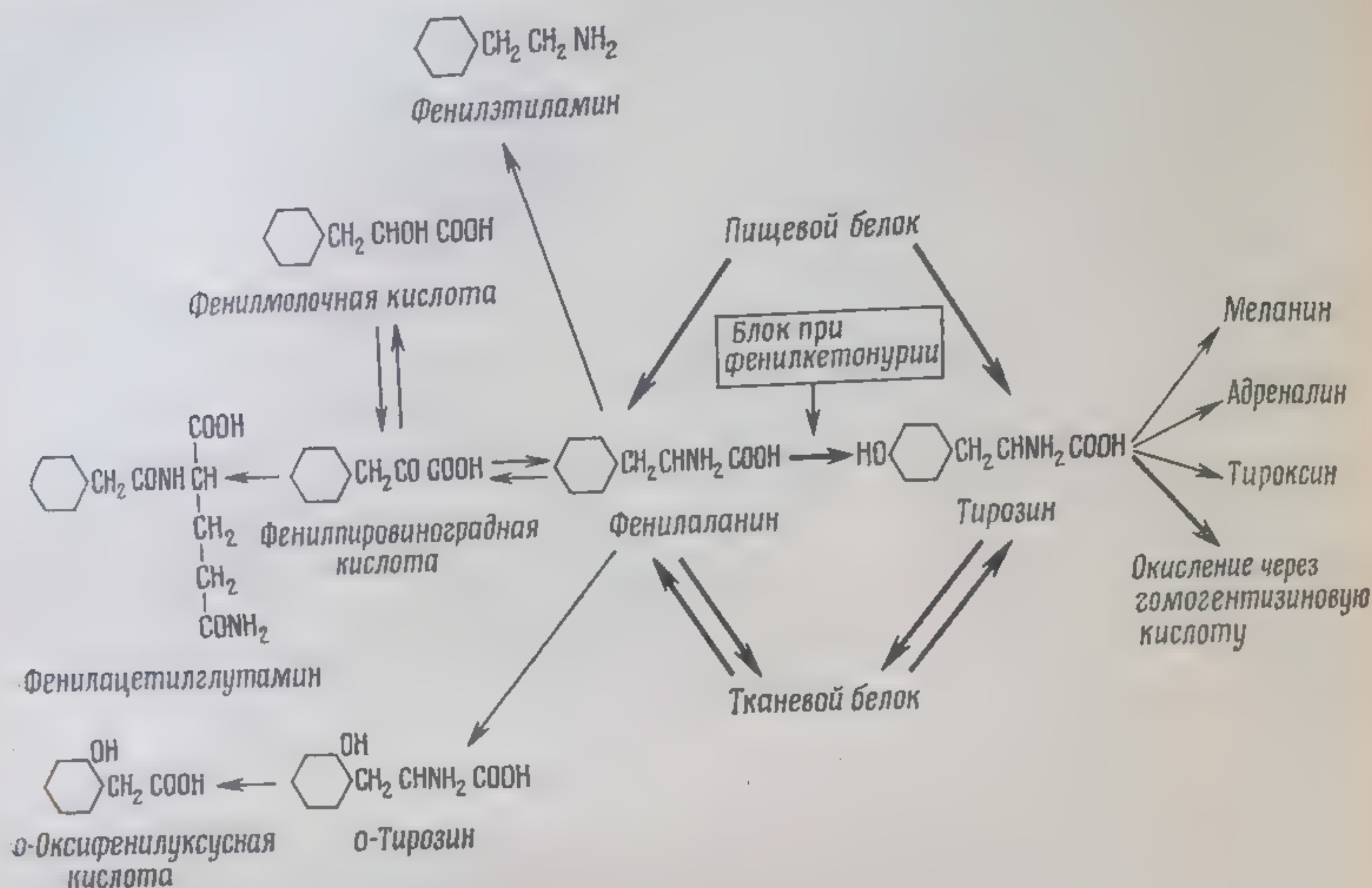
II. ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ

Фенилкетонурия относится к наиболее распространенным «врожденным нарушениям обмена», вызывающим тяжелые клинические симптомы. Это заболевание интенсивно изучалось после открытия его Фёллингом в 1934 году. Оно характеризуется резко выраженной умственной отсталостью. Так, в большинстве учреждений для умственно отсталых у 0,5—1% всего контингента больных выявляется фенилкетонурия. В Европе эта аномалия обнаруживается приблизительно у одного из 15 000 новорожденных.

Недостающим ферментом является фенилаланин — 4-гидроксилаза [307, 431, 658], которая в норме катализирует в печени гидроксилирование β -пара-положении аминокислоты фенилаланина с образованием тирозина. Фенилаланин непрерывно образуется при нормальном распаде тканевых белков и при переваривании белков пищи (фиг. 61). Первый этап катаболизма фенилаланина состоит в его превращении в печени в тирозин. Если этот процесс нарушен, то фенилаланин накапливается в клетках и появляется в больших количествах в жидкостях организма. При фенилкетонурии содержание фенилаланина в сыворотке обычно более чем в 30 раз выше нормы; выведение его с мочой также увеличено. Уровень фенилаланина значительно повышен и в спинномозговой жидкости.

Такое сильное повышение концентрации фенилаланина вызывает различные вторичные биохимические нарушения (фиг. 61). Один путь связан с изменениями в боковой цепи фенилаланина [306]. При этом образуются большие количества фенилпировиноградной [175] и фенилмолочной кислоты [704]; появляется также фенилуксусная кислота. Последняя далее соединяется с глутамином, образуя фенилацетилглутамин [694]. Эти вещества характеризуются низким почечным порогом и выводятся в больших количествах с мочой. Эта аномалия получила свое название в связи с обнаружением в моче фенилпировиноградной кислоты.

Другое производное фенилаланина, образующееся в повышенных количествах при этом заболевании, это о-оксифенилуксусная



Ф и г. 61. Пути обмена фенилаланина.

Указан пункт метаболического блока при фенилкетонурии.

кислота [16]. Орто-гидроксилирование фенилаланина (или фенилпировиноградной кислоты) может происходить и в норме [626], но в количественном отношении оно незначительно по сравнению с пара-гидроксилированием, ведущим к образованию тирозина. Однако, когда основной путь обмена блокирован, продукт побочного пути образуется в больших количествах. У больных фенилкетонурией из фенилаланина вырабатывается в значительных количествах также фенилэтиламин [473] — еще одно производное фенилаланина, которое в норме, по-видимому, почти не образуется.

При этом заболевании наблюдаются, кроме того, отклонения в обмене триптофана. Повышается выведение индолуксусной и индолмолочной [15], а также индолпировиноградной кислоты [558], а выведение 5-оксииндолуксусной кислоты понижается [482]. Наблюдается снижение концентрации 5-окситриптамина в крови. Поскольку эти нарушения можно устранить при помощи диеты с пониженным содержанием фенилаланина, они являются, по-видимому, вторичными. Их объясняют частичным ингибированием под действием фенилаланина или одного из его производных какого-то фермента или группы ферментов, участвующих в обмене триптофана.

Другое интересное проявление заболевания — небольшое, но заметное подавление образования меланина из тирозина. Вследствие этого волосы и кожа больных фенилкетонурией несколько

менее пигментированы, чем у их здоровых братьев и сестер. Это, по-видимому, объясняется частичным подавлением активности фермента тирозиназы под влиянием фенилаланина, который при этом заболевании накапливается в больших количествах. Фенилаланин является конкурентным ингибитором тирозин-тирозиновой системы *in vitro* [433]. Сильно увеличивая содержание тирозина в пище [599] или резко ограничивая прием с пищей фенилаланина [17], у больных фенилкетонурией оказалось возможным добиться нормальной пигментации вновь отрастающих волос.

Поскольку в пище, как правило, содержится достаточное количество тирозина, при фенилкетонурии обычно не наблюдается тирозиновой недостаточности. Однако примечательно, что хотя для здоровых людей тирозин и не является необходимым компонентом пищи (т. е. не относится к числу «незаменимых» аминокислот), он становится таковым при фенилкетонурии. Это объясняется тем, что в норме тирозин легко образуется в организме из фенилаланина, тогда как при фенилкетонурии этого не происходит.

При фенилкетонурии не наблюдается серьезных нарушений физического развития, однако умственное развитие резко замедлено; у таких больных, как правило, наблюдается резко выраженная умственная отсталость (олигофрения): большинство из них либо идиоты ($IQ < 20$), либо имбецилы ($IQ < 50$). Однако у некоторых больных нарушение умственного развития выражено в меньшей степени.

Механизм поражения мозга при фенилкетонурии остается неясным. Можно предполагать, что либо сам фенилаланин, либо какое-то другое вещество из тех, что присутствуют в жидкостях организма в резко повышенной концентрации, может ингибировать некоторые ферментные системы или блокировать определенные процессы транспорта и изменять внутриклеточную среду в тканях мозга таким образом, что нормальные биохимические процессы в нем нарушаются, однако вопрос о том, каковы конкретные причинные связи в данном случае, остается неясным. К числу соединений, которые ответственны за это нарушение, относится, по-видимому, фенилэтиламин [473]. Это соединение, рассматриваемое как нейротоксический агент, вероятно, образуется в мозге из фенилаланина в необычно больших количествах, поскольку уровень соответствующей декарбоксилазы L-аминокислоты не снижен, оставаясь таким же, как в норме. Другое вещество, которое может иметь значение в этой связи, — это 5-окситриптамин (серотонин), образование которого у больных фенилкетонурией понижено [482].

Лечение фенилкетонурии сводится главным образом к ограничению фенилаланина в рационе. Поскольку фенилаланин относится к незаменимым аминокислотам и необходим для нормального синтеза белка и для роста, его нельзя полностью исключить из пищи. Однако диета может быть составлена таким образом, чтобы

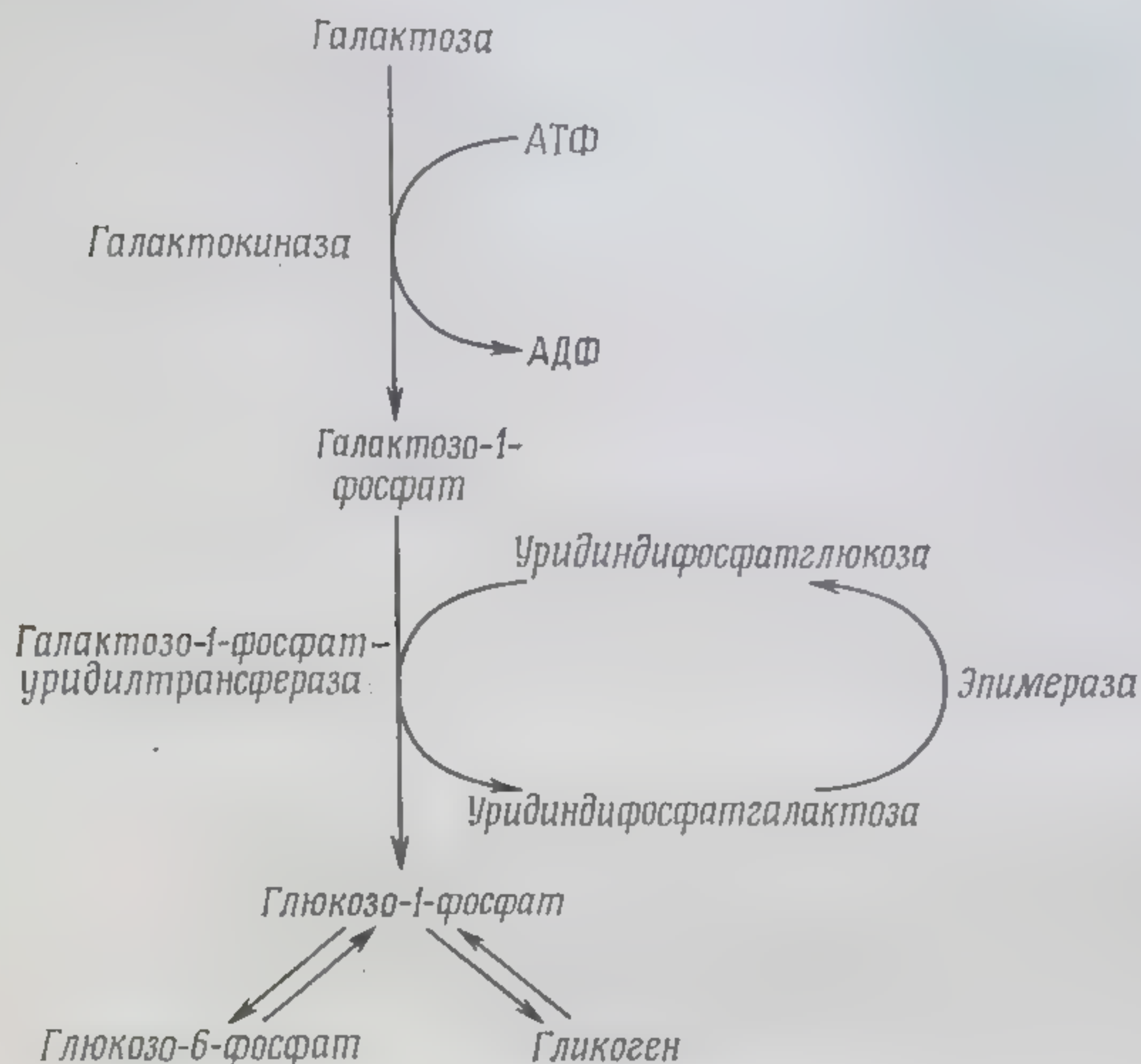
больной получал достаточно фенилаланина для нормального роста и в то же время не страдал от последствий избытка этой аминокислоты. При такой диете концентрация фенилаланина в жидкостях организма у больных фенилкетонурией снижается до нормального или близкого к нормальному уровня, и биохимические нарушения, являющиеся следствием высокой концентрации фенилаланина, исчезают [17]. Не совсем ясно, в какой мере можно снизить или предотвратить развитие умственной отсталости, постоянно применяя такую диету. Для того чтобы объективно оценить эффективность такого лечения, необходимы длительные наблюдения на большом клиническом материале. Тем не менее результаты, полученные до настоящего времени, небесперспективны. Так, например, выяснилось, что с помощью такой терапии можно добиться некоторого успеха, если начать ее как можно раньше, поскольку наиболее серьезные поражения мозга при фенилкетонурии происходят, по-видимому, в первые несколько месяцев после рождения.

III. ГАЛАКТОЗЕМИЯ

Галактоземия представляет собой врожденное нарушение углеводного обмена, при котором организм утрачивает способность перерабатывать одну из гексоз — галактозу [348, 639]. Галактоза служит важным компонентом пищи грудного ребенка, поскольку она входит в состав дисахарида лактозы, представляющего собой главный углевод молока. Питаясь молоком, ребенок получает значительные количества галактозы, что в случаях нарушения галактозного обмена влечет за собой серьезные последствия. Ребенок постепенно теряет в весе, его физическое и умственное развитие замедляется, отмечается увеличение печени и нередко развивается цирроз; описаны также случаи катаракты. Если диагноз не поставлен вовремя, то такие дети нередко умирают в грудном возрасте. Однако если такого ребенка перевести на диету, полностью лишенную галактозы, то его физическое состояние резко улучшается. По-видимому, если начать лечение достаточно рано и сразу же полностью исключить галактозу из пищи, то рост и развитие будут протекать нормально. Если же лечение запаздывает, то успевают произойти необратимые изменения, и описанные нарушения (цирроз печени, катаракта и умственная отсталость) в той или иной степени проявляются.

Галактоза включается в общий поток углеводного обмена через ряд реакций, которые завершаются превращением ее в глюкозо-1-фосфат (фиг. 62). Сначала она реагирует с АТФ, образуя галактозо-1-фосфат. Эта реакция катализируется ферментом галактокиназой. Галактозо-1-фосфат далее реагирует с нуклеотидом уридиндифосфатглюкозой, образуя глюкозо-1-фосфат и уридиндифосфатгалактозу. В этой реакции участвует галактозо-1-фосфат—

уридиндифосфат
из уридиндифосфата
галактозо-4-эпимеризация
мент НАД. Галактозо-1-фосфат — уридиндифосфат
раз и другие
держатся в нуклеотидном пуле
Если в пиридиновых
в клетках на
стях организмов
тозы. После
этого сахара
медленно. В
ленному выв
зы в жидкостях
тельных кол
лактитол
Большинство
лактоземии
трацией галактозы
подавляет
которых участвует
Поражение



Ф и г. 62. Пути обмена галактозы.

уридилтрансфераза. Далее, уридиндифосфатглюкоза регенерирует из уридиндифосфатгалактозы под действием уридиндифосфат-галактозо-4-эпимеразы — реакция, для которой необходим кофермент НАД. При галактоземии отсутствует фермент галактозо-1-фосфат — уридилтрансфераза [295, 314]. Галактокиназа, эпимераза и другие ферменты, связанные с углеводным обменом, содержатся в нормальных количествах.

Если в пище содержится галактоза, то и отсутствие фермента в клетках накапливается галактозо-1-фосфат [561], и в жидкостях организма отмечается аномально высокое содержание галактозы. После приема пищи, содержащей галактозу, содержание этого сахара в крови резко повышается и снижается затем очень медленно. Высокое содержание галактозы в крови приводит к усиленному выведению ее с мочой. Повышенное содержание галактозы в жидкостях организма приводит также к образованию значительных количеств соответствующего многоатомного спирта — галактитола [681, 682].

Большинство патологических изменений, сопровождающих галактоземию, можно объяснить высокой внутриклеточной концентрацией галактозо-1-фосфата. Как полагают, этот последний подавляет другие ферментативные реакции углеводного обмена, в которых участвуют фосфорилированные промежуточные продукты. Поражение печени и мозга, а также общее нарушение развития,

вероятно, представляют собой вторичные явления. Следует отметить также тенденцию к гипоглюкоземии вследствие пониженного поступления глюкозы из печени. Катаракты, которые характерны для этого заболевания, вероятно, вызваны высокой концентрацией галактозы в жидкостях организма и образованием вследствие этого необычно больших количеств галактитола [201]. В связи с этим интересно сравнить патологические изменения при галактоземии, вызванной отсутствием галактозо-1-фосфат — уридилтрансферазы, с теми, которые наблюдаются при другом врожденном нарушении обмена галактозы, связанном с сильно выраженной недостаточностью галактокиназы, когда уридилтрансфераза и эпимераза содержатся в нормальных количествах. В последнем случае [200] после приема в пищу молока в крови значительно повышается содержание галактозы и в повышенных количествах образуется галактитол. Однако галактозо-1-фосфат не образуется. Наиболее характерным клиническим проявлением этого заболевания служит быстрое развитие катаракты в раннем возрасте. Других патологических изменений при этом не наблюдается. Все это составляет резкий контраст с картиной классической галактоземии, при которой отсутствует трансфераза. Катаракта, развивающаяся в обоих случаях, очевидно, вызывается накоплением галактозы и избыточным образованием галактитола, тогда как другие тяжелые патологические изменения, наблюдаемые в отсутствие уридилтрансферазы, но не в отсутствие галактокиназы, связаны с накоплением галактозо-1-фосфата. Галактитол, по-видимому, легко образуется в хрусталиках, но, вероятно, не подвергается дальнейшим превращениям. Накопление его в хрусталиках может приводить к образованию катаракты вследствие чрезмерной гидратации и нарушения баланса электролитов.

IV. НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ

Часто молекулярная структура фермента определяется более чем одним генным локусом. Типичный пример — лактатдегидрогеназа или фосфоглюкомутаза, о которых речь шла выше. Каждый локус кодирует «свою» полипептидную цепь, в результате чего могут образовываться различные по структуре молекулярные формы данного фермента — изоферменты. Нередко количественное соотношение различных изоферментов в разных тканях в значительной мере варьирует; это объясняется тем, что выражение различных генетических локусов в клетках разного типа неодинаково.

В таких случаях мутация в одном из локусов может привести к недостаточности некоторых, но не всех, изоферментов. Поскольку в норме разные ткани и органы могут отличаться друг от друга по наборам изоферментов, это может отразиться на биохимических изменениях и клинических проявлениях у данного мутанта.

Такие различия
ному организму
никогда весьма
рых наследствен

I. Недостаточность
непереносимости

Обнаружен
щихся в отно
490]. Это альб
преобладающая
мозге. Эти изо
видимому, отл
соединений, ко
на предполож
Различия меж
видимому от
теза в них по
в печени поли
раздо больше
сом А, тогда
время в мыш
димому, предс
Каждый из
ющие реакции

- 1). Фруктоза
- 2). Фруктоза

Эти изофер
кинетике. Эт
ных скорости
фруктозоидиф
в экстрактах
альдолаза А
близительно
обладает и
составляет
Наследс
мому, пред
обмена фр
проявляются
Прием фр
рида — сах
ниям, при
витием ре
но распол
11-843

Такие различия изоферментного состава, свойственные нормальному организму, могут оказаться причиной многих характерных, иногда весьма неожиданных симптомов, отмечаемых при некоторых наследственных заболеваниях.

1. Недостаточность альдолазы при наследственной непереносимости фруктозы

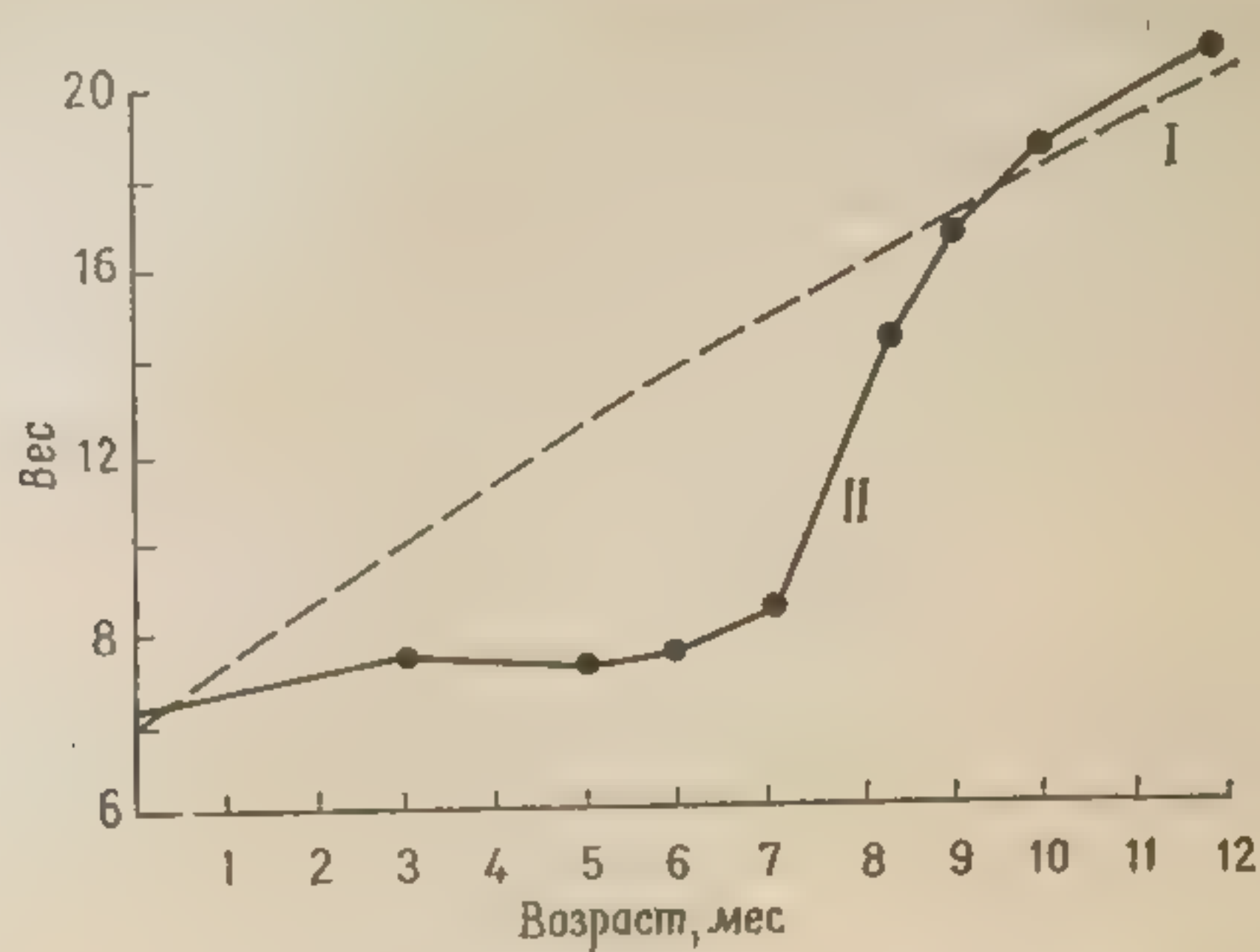
Обнаружено существование по крайней мере трех различающихся в отношении структуры форм фермента альдолазы [489, 490]. Это альдолаза А, обнаруживаемая в мышцах, альдолаза В, преобладающая в печени, и альдолаза С, которая встречается в мозге. Эти изоферментные белки являются тетрамерами и, по-видимому, отличаются друг от друга по структуре полипептидных субъединиц, которые входят в их состав. Каждая такая субъединица предположительно определяется отдельным генным локусом. Различия между тканями в отношении набора изоферментов, по-видимому отражают различия в относительной интенсивности синтеза в них полипептидов, кодируемых различными локусами. Так, в печени полипептид, определяемый локусом В, образуется в гораздо больших количествах, чем полипептид, определяемый локусом А, тогда как локус С, вероятно, совсем не активен. В то же время в мышцах практически весь синтезируемый фермент, по-видимому, представляет собой продукт локуса А.

Каждый изофермент альдолазы [539] катализирует две следующие реакции:

- 1). Фруктозодифосфат \rightleftharpoons Диоксиацетонфосфат + Глицеральдегид-3-фосфат;
- 2). Фруктозо-1-фосфат \rightleftharpoons Диоксиацетонфосфат + Глицеральдегид.

Эти изоферменты, однако, отличаются друг от друга по своей кинетике. Это в особенности очевидно при сравнении относительных скоростей реакций, когда в качестве субстрата используются фруктозодифосфат (ФДФ) и фруктозо-1-фосфат (Ф-1-Ф). Так, в экстрактах мышц, в которых содержится практически только альдолаза А, отношение активностей ФДФ:Ф-1-Ф составляет приблизительно 50:1, тогда как в экстрактах печени, в которых преобладает изофермент В, отношение активностей ФДФ:Ф-1-Ф составляет около 1:1.

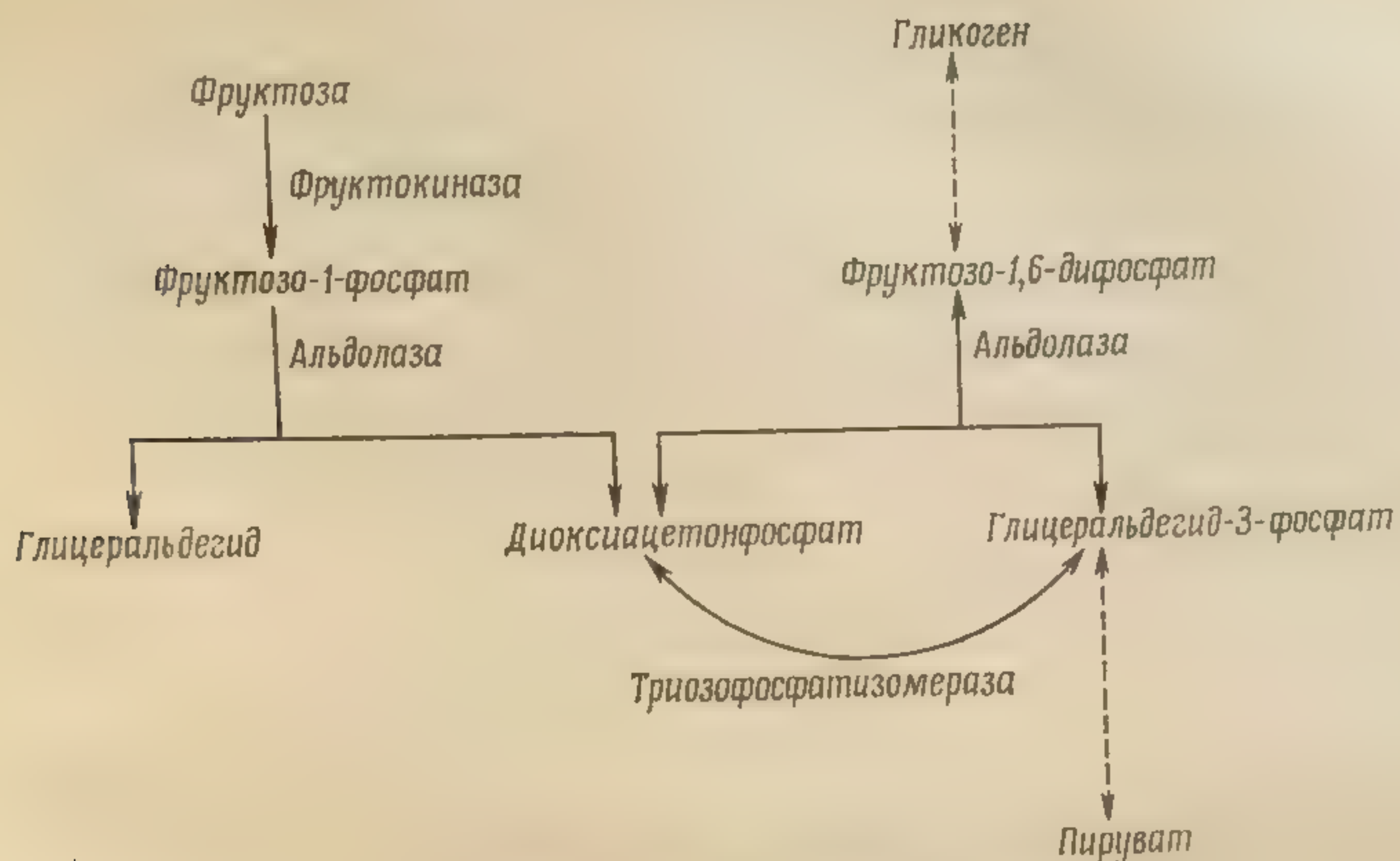
Наследственная непереносимость фруктозы [101, 182], по-видимому, представляет собой специфическое врожденное нарушение обмена фруктозы. При этой аномалии патологические симптомы проявляются только после приема пищи, содержащей фруктозу. Прием фруктозы, неважно, в свободном виде или в виде дисахарида — сахарозы, немедленно приводит к патологическим изменениям, причем основные симптомы связаны, как полагают, с развитием резко выраженной гипоглюкоземии. Это заболевание обычно распознается уже в раннем детстве: его симптомы выявляются



Ф и г. 63. Кривая изменения веса ребенка с непереносимостью фруктозы [62]. Ребенка кормили грудью всего два дня, ■ затем перевели на препарат сухого молока с добавкой сахарозы. Ребенок в течение последующих нескольких месяцев не прибавлял в весе, состояние его здоровья ухудшалось. Только после перевода на диету, не содержащую фруктозы, ребенок начал прибавлять в весе и наступило улучшение. I — экстраполированная кривая к 10-му месяцу. II — на диете, не содержащей фруктозы.

сразу же после того, как ребенка начинают прикармливать смесями, содержащими сахарозу. Состояние ребенка резко ухудшается, и может наступить летальный исход, если вовремя не поставить диагноз и не исключить сахарозу из рациона (фиг. 63).

Фруктоза вступает в систему углеводного обмена, превращаясь в фруктозо-1-фосфат, под действием фермента фруктокиназы при участии АТФ (фиг. 64). Далее фруктозо-1-фосфат расщепляется альдолазой (реакция 2, см. ниже). При наследственной непереносимости фруктозы было выявлено значительное снижение альдолазной активности в печени, но не в мышцах [183, 248]. Снижение активности альдолазы печени значительно более выражено, если для определения ферментативной активности в качестве субстрата используется фруктозо-1-фосфат, а не фруктозодифосфат. Так, было показано (табл. 17), что активность альдолазы печени с фруктозо-1-фосфатом в качестве субстрата при этой аномалии составляет всего около 4% нормальной активности. С фруктозодифосфатом в качестве субстрата активность печеночной альдолазы составляла около 25% нормы. Отношение активностей для этих двух субстратов (величина ФДФ/Ф-1-Ф) у больных было около 6:1, тогда как в контроле оно составляло приблизительно 1:1. Аналогичные результаты получены и в других исследованиях. Таким образом выяснилось, что характерным признаком этого заболевания является резкое снижение активности альдолазы печени в отношении Ф-1-Ф при умеренном снижении активности в отношении ФДФ , так что отношение активностей ФДФ/Ф-1-Ф значительно повышается. В то же время мышечная альдолаза не обнаруживает никаких отклонений от нормы: ее активность как



Ф и г. 64. Пути обмена фруктозы.

в отношении ФДФ, так и в отношении Ф-1-Ф та же, что и в контроле, и величина ФДФ/Ф-1-Ф не изменяется.

Эти результаты проще всего объяснить специфической недостаточностью альдолазы В. Остаточная альдолазная активность печени, вероятно, обусловлена главным образом присутствием альдолазы А, характерная полипептидная субъединица которой синтезируется в норме, хотя и в малых количествах. Возможно также, что происходит некоторый компенсаторный синтез альдолазы А как реакция на недостаточность альдолазы В. В мышцах, где в норме образуется только полипептидная цепь альдолазы А, недостаточность альдолазы не возникает.

Поступление фруктозы в организм при недостаточности альдолазы В приводит к внутриклеточному накоплению фруктозо-1-фосфата и аномальному повышению содержания фруктозы в жидкостях организма. Уровень фруктозы в крови резко повышается, и фруктоза выводится с мочой. Токсический эффект фруктозы в этих условиях почти несомненно зависит от резкого повышения концентрации фруктозо-1-фосфата в клетках печени, поскольку при другом нарушении обмена фруктозы, вызываемом недостаточностью фруктокиназы [546], даже при высоком содержании фруктозы в пище не выявляется никаких клинических нарушений. При такой недостаточности, так же как и в отсутствие в организме альдолазы, содержание фруктозы в крови очень высоко, однако накопление фруктозо-1-фосфата не происходит. Точный механизм, лежащий в основе токсического эффекта фруктозо-1-фосфата при наследственной непереносимости фруктозы, неизвестен, однако вероятно, что в данном случае происходит подавление активности других

ТАБЛИЦА 17

Альдолазная активность ткани печени, взятой путем биопсии у больных с непереносимостью фруктозы и в норме [248]

		Активность альдолазы печени ¹⁾		Отношение активностей ФДФ/Ф-1-Ф
		с фруктозодифосфатом (ФДФ)	с фруктозо-1-фосфатом (Ф-1-Ф)	
Непереносимость фруктозы	1	3,1	0,5	6,2:1
	2	2,5	0,4	6,2:1
	Среднее	2,8	0,45	6,2:1
Норма	1	7,2	8,0	0,90:1
	2	15,4	15,8	0,97:1
	3	8,5	9,1	0,93:1
	4	11,0	12,4	0,89:1
	5	14,9	13,7	1,09:1
	Среднее	11,4	11,8	0,96:1

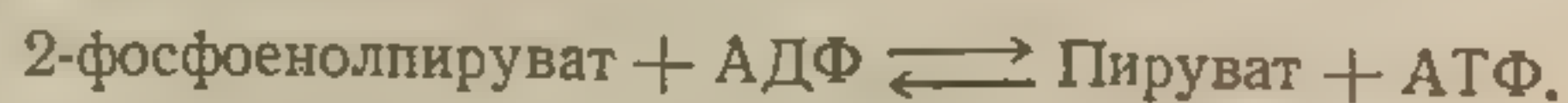
¹⁾ Альдолазная активность выражена числом микромолей субстрата, расщепленного в 1 мин на 1 г ткани.

ферментов, причастных к углеводному обмену в печени, ■ особенности тех ферментов, которые участвуют в разложении гликогена и поддержании нормального уровня сахара в крови.

Таким образом, недостаточность альдолазы при наследственной непереносимости фруктозы выражается исключительно в нарушении обмена экзогенной фруктозы, попадающей в организм. Гликолиз в мышцах при этом не нарушается, поскольку активность альдолазы А остается нормальной. Гликолиз и глюконеогенез в печени также не изменяются сколько-нибудь значительно, поскольку ферментативная активность, необходимая для разложения или синтеза фруктозодифосфата, достаточна для удовлетворения нормальных потребностей при условии, что фруктоза исключена из рациона и, таким образом, нет вторичных нарушений, вызываемых накоплением фруктозо-1-фосфата.

2. Недостаточность пируваткиназы

Пируваткиназа катализирует превращение фосфоенолпирувата в пируват, т. е. ключевую реакцию гликолиза, сопряженную с образованием АТФ:



Обнаружено по крайней мере два различных изофермента пируваткиназы [60]. Эти изоферменты отличаются друг от друга

по своей кинетике и по ряду физических свойств: их можно дифференцировать также иммунохимически. Предполагают, что они определяются различными генными локусами. У человека одна из этих форм обнаружена только в эритроцитах и в печени. Другая форма была найдена в печени, почках, скелетных мышцах, сердечной мышце и в лейкоцитах. Однако она отсутствует в эритроцитах.

Описано много случаев особой формы хронической гемолитической анемии, по-видимому, вызываемой специфической недостаточностью пируваткиназы эритроцитов [68, 209, 324, 621, 645]. При этом типе недостаточности отмечается резкое нарушение гликолиза в эритроцитах, связанное с ухудшением снабжения их энергией и с сокращением средней продолжительности их жизни. Степень недостаточности этого фермента обычно высока, но у больных из разных семей она может быть выражена в неодинаковой мере. По-видимому, эта недостаточность обусловлена рядом различных мутантных аллелей. В некоторых случаях было показано, что изменена кинетика соответствующей ферментативной реакции [64, 480].

В то время как в эритроцитах уровень пируваткиназы резко снижен, в лейкоцитах он остается совершенно нормальным. Таким образом, очевидно, что эта аномалия специфически затрагивает изофермент эритроцитов. Другой тканью организма, в которой встречается изофермент, характерный для эритроцитов, является печень, но в ней он присутствует вместе с другой формой, содержащейся также в лейкоцитах. Таким образом, можно ожидать, что у больных с недостаточностью пируваткиназы эритроцитов должна отмечаться некоторая недостаточность пируваткиназы и в печени. Оказалось, что это действительно так [59], причем, как было показано, снижение общей активности фермента обусловлено недостаточностью именно того изофермента, который встречается в эритроцитах, тогда как другой изофермент не был затронут. Очевидно, в данном случае активности неизмененного изофермента вполне достаточно для поддержания нормальной функции, благодаря чему заметных нарушений обмена в печени не отмечается.

V. ЧАСТИЧНАЯ ФЕРМЕНТНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ И ЕЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ; ФЕРМЕНТЫ ЦИКЛА МОЧЕВИНЫ

Согласно классическому представлению, при врожденных нарушениях обмена тот или иной специфический фермент отсутствует и метаболический путь, связанный с ним, блокирован полностью. Естественно, следует ожидать, что метаболиты, непосредственно предшествующие блоку, будут накапливаться, а нормальные продукты реакции не будут образовываться. По мере изучения все новых случаев стало ясно, что при многих наследственных болез-

нях обмена хотя и наблюдается недостаточность определенного фермента, потеря активности не является полной. Следовательно, нормальные продукты реакции все же образуются, и метаболический путь блокирован лишь частично. Однако из-за недостаточно интенсивного синтеза продуктов реакции и накопления метаболитов, непосредственно предшествующих частично блокированной реакции, часто возникают (непосредственно или опосредованным путем) тяжелые заболевания. Конечно, бывают случаи, когда, несмотря на явное нарушение обмена веществ, клинических проявлений не наблюдается: они проявляются лишь в особых условиях метаболического стресса.

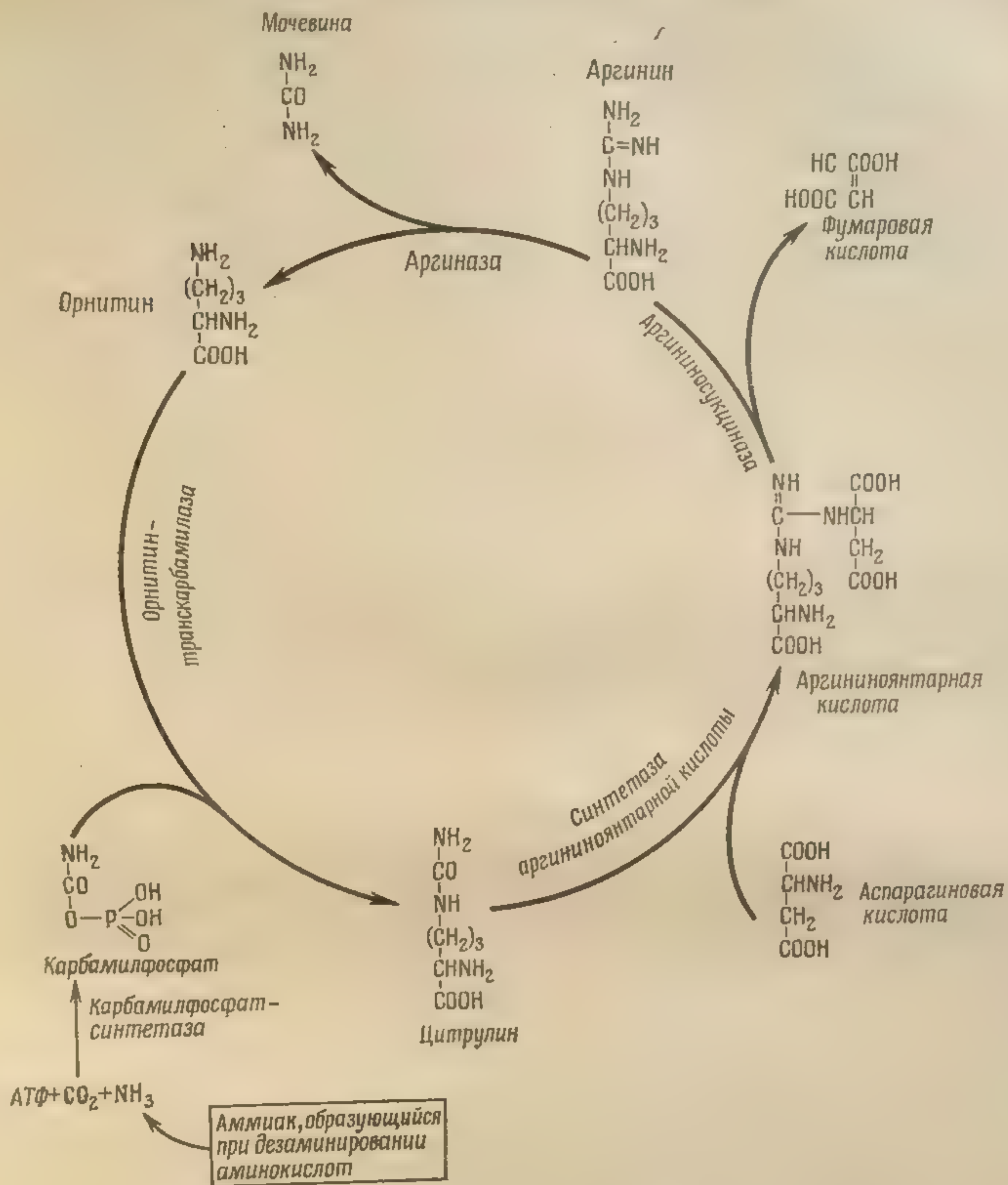
В зависимости от степени ферментной недостаточности и от того, какой метаболический путь затронут данной аномалией, могут наблюдаться самые различные эффекты. Особый интерес представляют случаи, когда продукт реакции, по-видимому, образуется с нормальной или почти нормальной скоростью, но тем не менее некоторые промежуточные продукты данной последовательности реакций накапливаются в резко повышенной концентрации, что указывает на наличие выраженного метаболического блока. В таких случаях действительно удается обнаружить хотя и частичную, но весьма значительную недостаточность соответствующего фермента. Подобные ситуации во многих случаях можно объяснить повышением скорости реакции, вызванной увеличением концентрации субстрата. Хотя активность данного фермента может быть сильно снижена по сравнению с нормой, но увеличение концентрации соответствующего субстрата, неизбежно наступающее при этом, может оказаться достаточным для того, чтобы скорость данной реакции, т. е. скорость образования ее продукта, оказалась нормальной или близкой к норме.

Такая ситуация хорошо иллюстрируется результатами биохимических исследований [152] ряда редких нарушений, вызванных специфической недостаточностью отдельных ферментов цикла Кребса — Гензелейт (фиг. 65). Эта хорошо изученная последовательность реакций приводит к образованию мочевины — главного конечного продукта азотистого обмена организма.

Одно из таких нарушений, называемое аргининосукцинацидурией, возникает из-за недостаточности фермента аргининосукциназы (аргининосукцинат — аргинин-лиаза), который расщепляет аргининосукцинат на аргинин и фумарат [7, 684]. Аргининосукцинат, промежуточный продукт цикла мочевины, в норме присутствует в следовых количествах. При аргининосукцинацидурии он появляется в значительной концентрации. Содержание его в сыворотке повышается, и он в значительных количествах выводится с мочой. При этом отмечается также некоторое увеличение содержания в сыворотке цитруллина — непосредственного предшественника аргининосукцината. Содержание аммиака в крови, нормальное натощак, значительно повышается после приема пищи, богатой

НН
СО
О—
Карб
↑
АТФ+СО₂

белком. С
нормы. Мочен
ционной
тельное
сти. Одна
ляет мен
все же д
лее или
ниносукц
при кото
сти ферм



Ф и г. 65. Ферменты цикла мочевины.

белком. Однако уровень мочевины в крови при этом не падает ниже нормы.

Мочевина образуется главным образом в печени. Путем пункционной биопсии печени при этом заболевании обнаружено значительное и специфичное снижение аргининосукциназной активности. Однако даже несмотря на то что активность фермента составляет менее 5% нормальной величины [428], этого, по-видимому, все же достаточно для того, чтобы синтез мочевины протекал с более или менее нормальной скоростью. В норме концентрация аргининосукцината, как полагают, очень низка, гораздо ниже уровня, при котором происходит насыщение фермента. При недостаточности фермента концентрация аргининосукцината возрастает и до-

стигает уровня, при котором скорость реакции близка к норме, при значительно более низкой концентрации субстрата. В результате скорость образования мочевины не снижается сколько-нибудь значительно, однако заметно изменяются концентрации тех промежуточных продуктов метаболического пути, которые предшествуют реакции разложения аргининосукцината. Концентрация самого аргининосукцината значительно возрастает; несколько повышается также содержание его предшественников. Все эти отклонения усиливаются сразу же вслед за приемом пищи, богатой белком.

При другом нарушении, известном под названием цитруллинемии [414], дефектным ферментом является аргининосукцинат-синтетаза. При этой аномалии отмечается резко повышенное содержание цитруллина в плазме и усиленное выведение этой аминокислоты с мочой. Наблюдается также повышение содержания аммиака в крови, в особенности после приема белковой пищи. Однако образование мочевины продолжается. Так, в одном хорошо изученном случае уровень мочевины в крови постоянно оставался в пределах нормы [414, 434]. Однако в другом случае содержание мочевины было ниже нормального, т. е. скорость ее образования была, по-видимому, несколько снижена [445]. Можно полагать, что в первом случае повышение внутриклеточной концентрации цитруллина было достаточным, для того чтобы скорость реакции, катализируемой дефектным ферментом, была более или менее нормальной, тогда как во втором случае она не достигала требуемого уровня.

Эти наблюдения представляют интерес в связи с тем, что в норме аргининосукцинат-синтетаза считается лимитирующим ферментом цикла мочевины [428]. Однако даже для этой реакции, лимитирующей скорость всего процесса, по-видимому, имеется значительный функциональный резерв, поскольку, судя по расчетам, основанным на измеренных уровнях активности ферментов цикла, скорость образования мочевины может значительно превышать ту, которая необходима в нормальных условиях. Просто относительное понижение активности, при котором замедления всего процесса и значительного снижения скорости образования мочевины еще не произойдет, для этого фермента, вероятно, меньше, чем для других ферментов цикла. Такой уровень может достигаться в некоторых (но не во всех) случаях цитруллинемии.

При другом нарушении, известном под названием гипераммониемии, отмечена недостаточность орнитинтранскарбамилазы [538]. Этот фермент катализирует образование цитруллина из орнитина и карбамилфосфата (фиг. 65). При этом также имеет место частичная недостаточность фермента, и уровень содержания мочевины в крови остается в пределах нормы. Однако наблюдается стойкое увеличение содержания аммиака в крови.

Как уже отмечалось выше, недостаточность того или иного фермента может возникнуть разными путями. В некоторых случа-

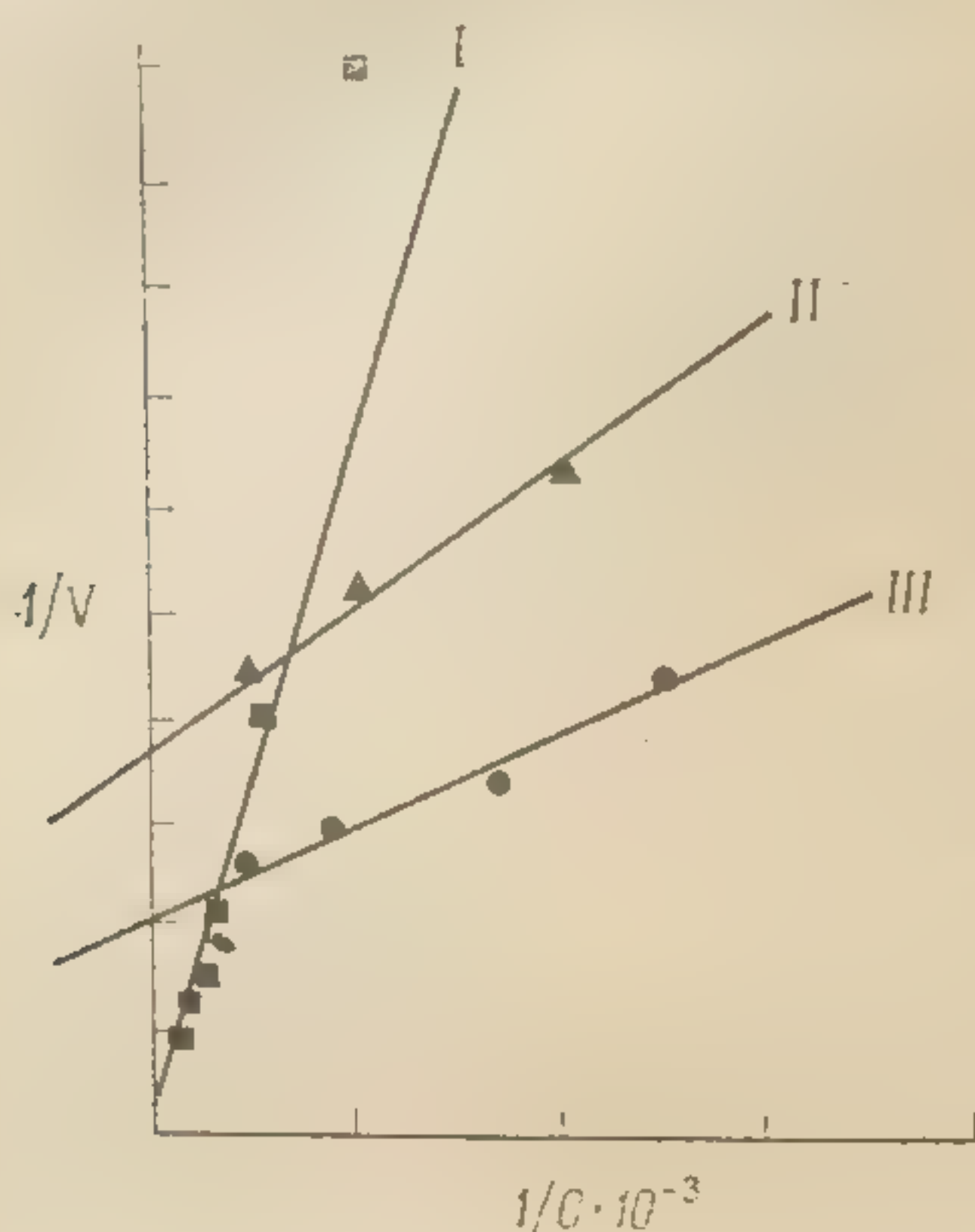
ях она может быть
ка, который кат
нормальный бел
распадается. В д
звана снижением
зом, состояние не
ситуацию, при ко
ных количествах,
же ситуацию, ког
ны сколько-нибудь
ства имеющегося
причины недостат
можно, что продук
близкой к нормал
случаях, когда у
стра недостаточн
концентрации суб
статочно для того
ной величины еще

В большинстве
ных с циклом моч
вестной. Однако в
было показано, ч
синтезом аномал
ческими свойствам
кажущиеся конст
тазы с цитруллин
25 раз выше, чем
вера — Берка пред
достаточно высок
скорость реакции
ски такой же, как
риклеточные кон
ствительности кон
частном случае не
in vivo достигается
ятно, потому, что
в клетках печени,
образования мочеви
из клеток печени в
при которых повыш
скорость образова
мальной.
При всех этих а
ние локализуется в
мы связаны чаще в
При этом, как

ях она может быть вызвана синтезом структурно измененного белка, который каталитически менее активен, чем соответствующий нормальный белок, или же менее стабилен и значительно быстрее распадается. В других случаях недостаточность может быть вызвана снижением скорости синтеза ферментного белка. Таким образом, состояние недостаточности может представлять собой такую ситуацию, при которой ферментный белок содержится в нормальных количествах, но изменена его каталитическая активность, или же ситуацию, когда каталитические свойства фермента не изменены сколько-нибудь заметно, однако имеет место снижение количества имеющегося ферментного белка. При этом, независимо от причины недостаточности, если недостаточность частичная, то возможно, что продукт реакции синтезируется с нормальной или близкой к нормальной скоростью. Это обычно отмечается в тех случаях, когда у непораженных индивидуумов концентрация субстрата недостаточна для насыщения фермента и когда повышение концентрации субстрата, наступающее вследствие нарушения, достаточно для того, чтобы повысить скорость реакции до нормальной величины еще до того, как фермент будет полностью насыщен.

В большинстве случаев ферментной недостаточности, связанных с циклом мочевины, истинная причина дефекта остается неизвестной. Однако в одном случае, а именно при цитруллинемии, было показано, что недостаточность скорее всего обусловлена синтезом аномального фермента с резко измененными каталитическими свойствами [630]. Было показано, что при цитруллинемии кажущиеся константы Михаэлиса (K_m) аргининосукцинат-синтазы с цитруллином в качестве субстрата по крайней мере в 25 раз выше, чем в норме. Полученные при этом кривые Лайнуивера — Берка представлены на фиг. 66. Видно, что по достижении достаточно высокой внутриклеточной концентрации цитруллина скорость реакции с измененным ферментом может быть практически такой же, как и у нормальных индивидуумов, у которых внутриклеточные концентрации этой аминокислоты очень низки. В действительности концентрация мочевины в крови у больного в этом частном случае несколько ниже, чем в норме, т. е., по-видимому, *in vivo* достигается неполная компенсация. Это происходит, вероятно, потому, что очень значительная концентрация цитруллина в клетках печени, которая необходима для нормальной скорости образования мочевины, не достигается из-за «утечки» цитруллина из клеток печени в жидкости организма. Однако в других случаях, при которых повышение константы Михаэлиса не столь велико, скорость образования мочевины в принципе может быть почти нормальной.

При всех этих аномалиях цикла мочевины первичное нарушение локализуется в печени, однако основные клинические симптомы связаны чаще всего с поражением центральной нервной системы. При этом, как правило, отмечается высокая степень умствен-



Ф и г. 66. Графики, построенные по методу Лайнуивера — Берка (на оси ординат отложены величины, обратные скорости реакции, на оси абсцисс — величины, обратные концентрации).

Изучалась скорость (V) реакции, катализируемой аргининосукцинатсинтетазой, при различных концентрациях (C) цитруллина [630].

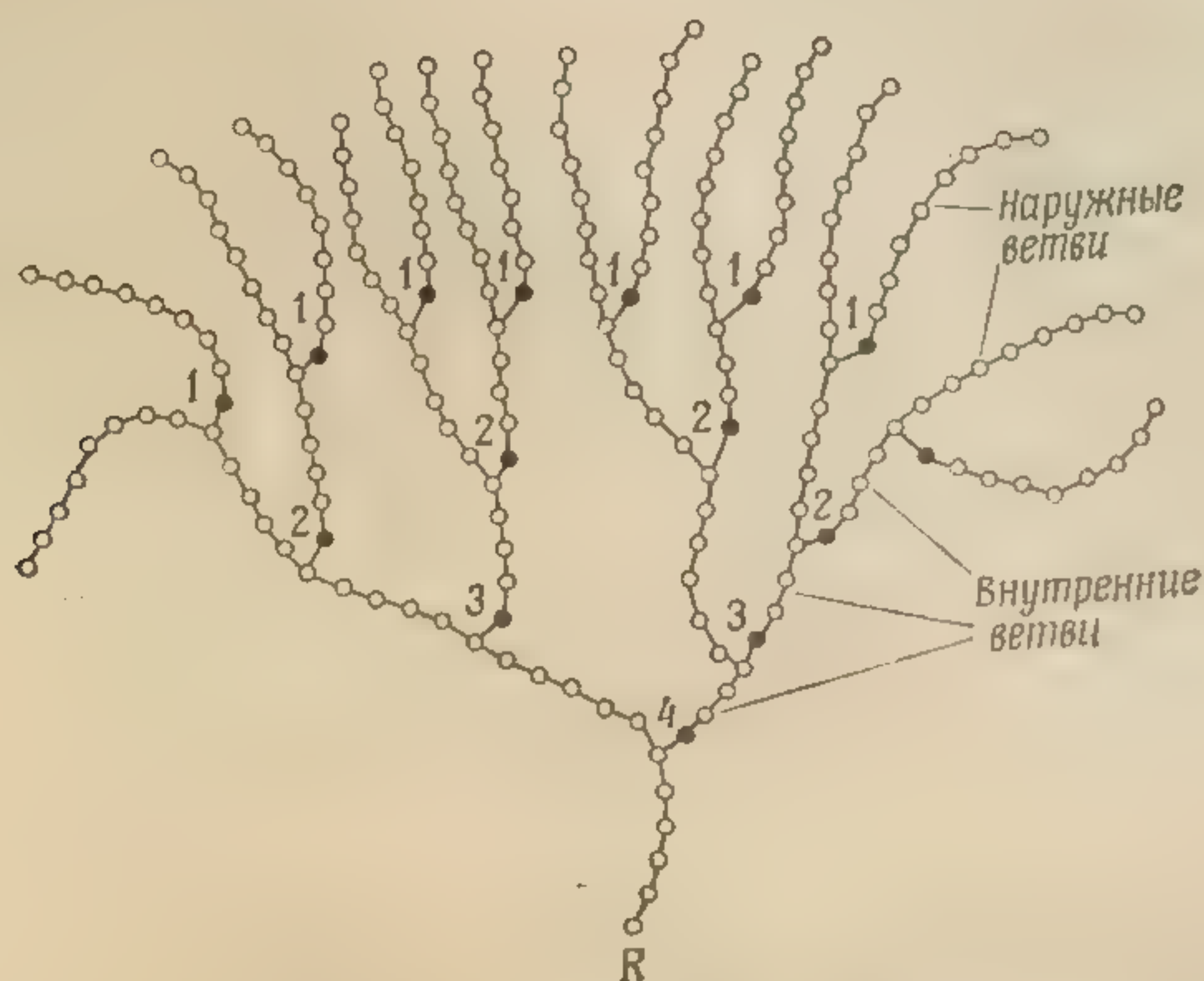
Фермент изучали в экстрактах, выращенных в культуре клеток фибробластов, полученных от больных с цитруллинемией и от соответствующих (контрольных) индивидуумов. Кривая I — фермент из клеток больного с цитруллинемией; II и III — фермент из клеток двух непораженных индивидуумов (контроль).

ной отсталости. Неврологические нарушения скорее всего обусловлены в основном токсическим эффектом повышенной концентрации аммиака в крови (особенно после приема белковой пищи), характерной для всех этих расстройств. Повышение концентрации аммиака в крови серьезнее всего сказывается в раннем детстве, в период созревания мозга. Таким образом, хотя общая скорость образования мочевины в большинстве случаев не претерпевает заметных изменений, развиваются тяжелые клинические нарушения как вторичное следствие накопления метаболитов, предшествующих частичному блоку в последовательности реакций.

VI. ГЛИКОГЕНОЗЫ

В синтезе и расщеплении сложных макромолекул также участвуют ферменты. Недостаточность таких ферментов может, как это и наблюдается в действительности, приводить к недостатку или, напротив, к избыточному накоплению соответствующих макромолекул. В некоторых случаях могут также появляться макромолекулы совершенно необычной структуры. Иллюстрируем сказанное на примере врожденных нарушений, затрагивающих полисахарид гликоген.

Гликоген — это главная форма отложения углеводов в организме животных. Хотя гликоген и встречается в большинстве тканей, особенно богаты им печень и мышцы. Гликоген представляет собой полидисперсный полимер со средней молекулярной массой от 2,5 до 4,5 млн; он построен из одного мономера, а именно из α -D-глюкозы. Молекулы гликогена имеют сильно разветвленную древовидную форму (фиг. 67). Большинство остатков глюкозы соединены между собой в цепочки при помощи α -1,4-связей, но в точках ветвления образуются α -1,6-связи. «Наружные» цепи, за-



Ф и г. 67. Модель участка молекулы гликогена [110].

Представлено 209 остатков глюкозы, молекулярный вес 33 858. Белые кружки — остатки глюкозы, присоединенные α -1,4-связью; черные кружки — остатки глюкозы, присоединенные α -1,6-связью; R — редуцирующая «концевая группа». Представлены четыре порядка ветвления (в гликогене их по меньшей мере семь). Внутренние цепи — участки между точками ветвления; наружные цепи начинаются от точки ветвления и кончаются нередуцирующим остатком глюкозы.

канчивающиеся нередуцирующим остатком глюкозы, как правило, длиннее, чем «внутренние» цепи, расположенные между двумя точками ветвления. Эти наружные цепи обычно состоят из 7...10 остатков глюкозы; на них может приходиться около 50% макромолекулы. В норме гликоген постоянно расщепляется и ресинтезируется в зависимости от потребностей обмена веществ ■ данный момент. Таким образом, количество, а до некоторой степени также размер и структура молекул гликогена, присутствующих ■ каждый данный момент в организме, зависит от состояния питания организма.

В распаде и синтезе гликогена участвует целый ряд различных ферментов. Главные пути соответствующих реакций схематично представлены на фиг. 68. Известен ряд редких нарушений, из которых каждое обусловлено специфической недостаточностью того или иного из этих ферментов (табл. 18). Некоторые из этих нарушений, как оказалось, затрагивают реакции, участвующие в синтезе макромолекул. Однако чаще нарушение, по-видимому, касается того или иного этапа распада гликогена и выражается во внутриклеточном накоплении гликогена в различных тканях — так называемая «болезнь депонирования гликогена».

1. Нарушения синтеза гликогена

Одна из аномалий синтеза гликогена [379, 380] обусловлена недостаточностью фермента гликогенсинтетазы (УДФ-глюкоза:

ТАБЛИЦА 18
Гликогенозы¹⁾

Заболевание	Недостающий фермент	Структура гликогена	Главные клинические проявления
Болезнь Гирке (тип I по Кори) ²⁾	Глюкозо-6-фосфатаза	Нормальная	Увеличение печени и почек, гипогликемия, ацидоз
Болезнь Помпе (тип II по Кори)	α -1,4-глюкозидаза (лизосомная)	Нормальная	Расширение сердца, сердечно-легочная недостаточность
Болезнь Форбса (тип III по Кори)	Амилу-1,6-глюкозидаза (катализирует отщепление цепей в точке ветвления)	Аномальная; очень короткие наружные цепи	Увеличение печени; умеренная гипогликемия и ацидоз
Болезнь Андерсена; амилопектиноз (тип IV по Кори)	Амилу-(1,4 \rightarrow 1,6)-трансглюкозидаза (катализирует образование новых цепей)	Аномальная; длинные внутренние и наружные цепи с очень малым числом точек ветвления	Цирроз печени
Болезнь Мак-Ардла (тип V по Кори)	Мышечная фосфорилаза	Нормальная	Судороги мышц при нагрузке
Болезнь Герса (тип VI по Кори)	Печеночная фосфорилаза	Нормальная	Увеличение печени; умеренная гипогликемия и ацидоз
—	Киназа фосфорилазы	Нормальная	Увеличение печени
—	Фосфофруктокиназа	Нормальная	Судороги мышц при нагрузке
—	Гликогенсинтетаза (УДФГ:гликоген—1,4-глюкозилтрансфераза)	—	Гипогликемия

1) Соответствующую литературу см. в тексте.

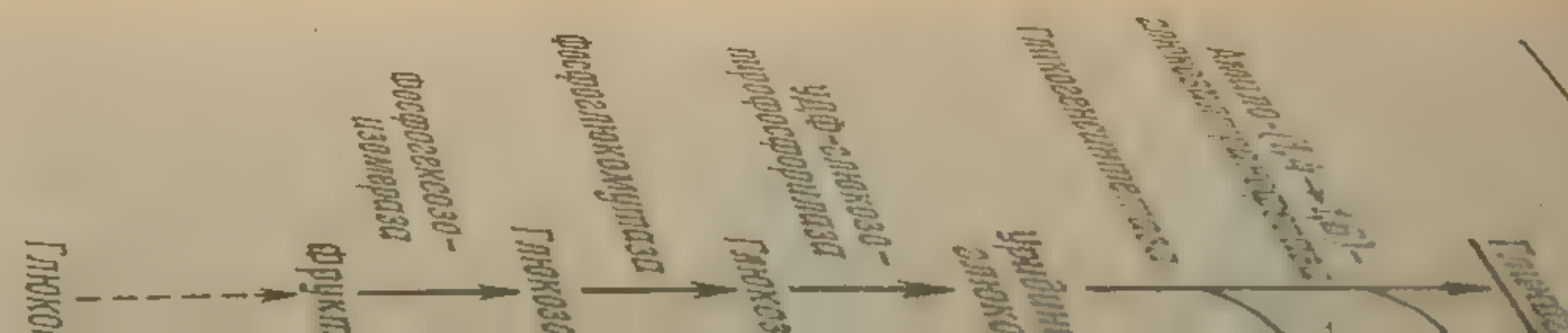
2) «Типы по Кори» основаны на классификации, предложенной Г. Кори [110, 111].

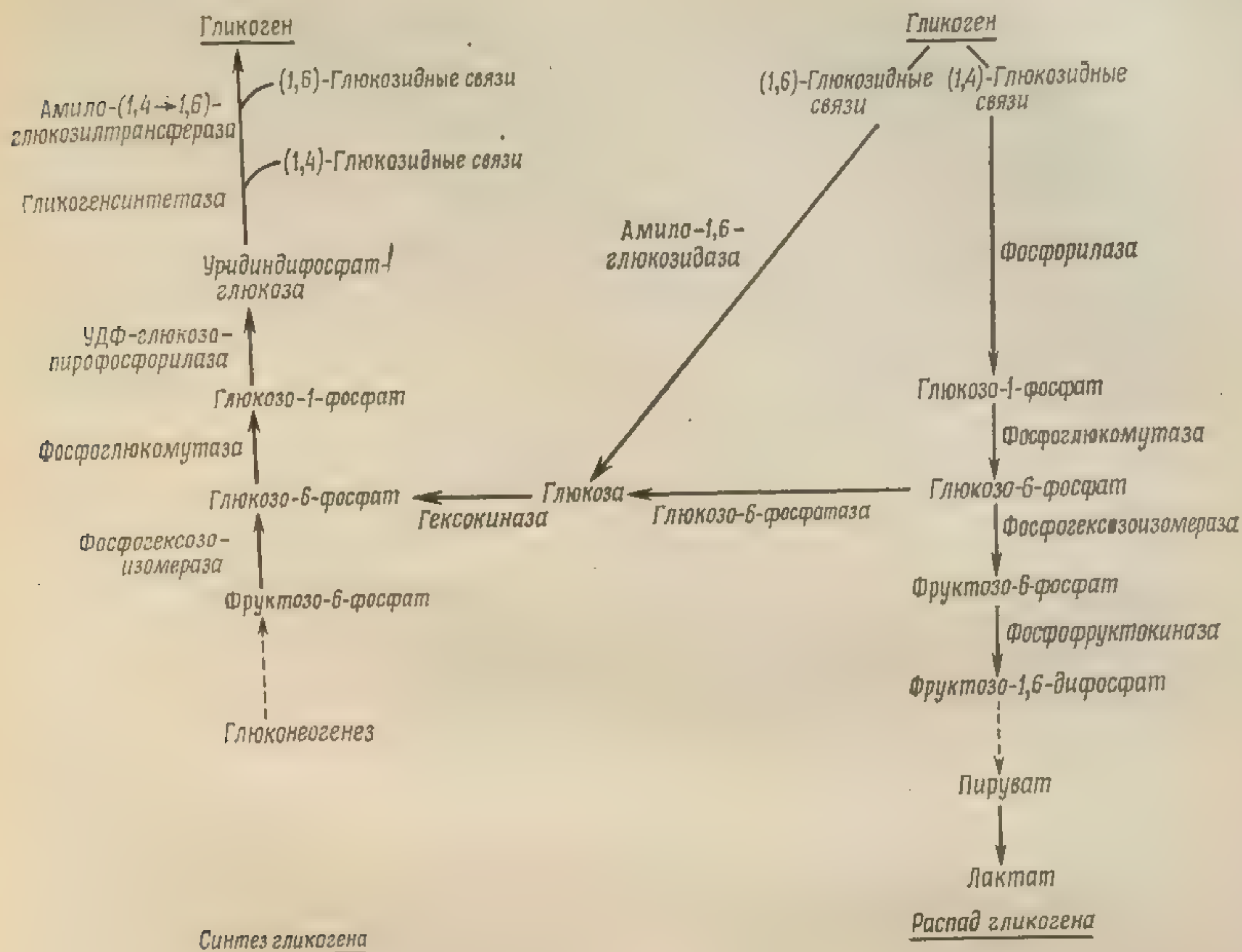
Ф и г. 68.

Синтез гликогена — α-1,4-глюкозилтрансфераза (УДФ-глюкоза → УДФ-глюкоза + Гликоген-α-1,4-глюкоза) и уридинтрифосфат (УТФ) образуют.

1). Гликоген — α-1,4-глюкоза

2). При недостатке уридинтрифосфата (УТФ) и синтез гликогена прекращается, что приводит к гипогликемии.





Ф и г. 68. Ферментативные реакции при синтезе и распаде гликогена.

гликоген — α -4-глюкозилтрансфераза), который в норме катализирует последовательное присоединение остатков глюкозы при помощи α -1,4-связей к растущим концам периферических ветвей гликогена. Остатки глюкозы переносятся от уридиндифосфатглюкозы (УДФ-глюкоза), которая образуется из глюкозо-1-фосфата и уридинтрифосфата (УТФ) под действием фермента УДФ-глюкозопирофосфорилазы. Эти реакции можно изобразить следующим образом:

- 1). Глюкозо-1-фосфат + УТФ \longrightarrow УДФ-глюкоза + Пирофосфат;
- 2). УДФ-глюкоза + [Глюкозил-(1,4)]_n \longrightarrow УДФ + [Глюкозил-(1,4)]_{n+1}.

При недостаточности гликогенсинтетазы блокируется реакция 2) и синтез гликогена резко нарушается. Однако было показано, что даже в тех случаях, когда синтетазная активность полностью исчезает, гликоген в печени все еще обнаруживается, хотя и в низкой концентрации. Гликоген при этом может образовываться при

помощи других реакций (например, из глюкозо-1-фосфата при помощи фосфорилазы), роль которых в нормальных условиях незначительна. Из-за недостатка гликогена уровень сахара в крови понижается, а при голодании резко падает. Быстро развиваются тяжелые симптомы гипогликемии, которые, однако, можно предотвратить частыми приемами пищи.

Другое нарушение синтеза гликогена вызывается недостатком фермента амило-(1,4→1,6)-трансглюкозидазы [89, 287]. Когда в результате последовательного переноса глюкозильных остатков с УДФ-глюкозы периферическая цепь растущей молекулы гликогена достигает соответствующей длины (вероятно, 7 или более остатков), эта трансглюкозидаза в норме переносит цепь из нескольких глюкозильных остатков, соединенных α -1,4-связью с основной цепью, присоединяя ее α -1,6-связью в том же или ином участке цепи, и новая α -1,6-связь образует новую точку ветвления. Недостаток этого фермента приводит к образованию молекул гликогена с резко измененной структурой. У них значительно меньше точек ветвления, причем внутренние и наружные цепи имеют необычно большую длину. Такой гликоген похож на амилопектин — разветвленный полисахарид крахмала, поэтому эту болезнь нередко называют «амилопектинозом». Такой аномальный гликоген гораздо менее растворим, чем нормальный, и вследствие этого отлагается в тканях. Для этого заболевания характерен цирроз печени [12], который, как полагают, связан с реакцией ткани на аномальный гликоген, воспринимаемый как инородное тело.

2. Нарушения использования гликогена

В разложении гликогена участвуют различные ферменты. Ситуация осложняется тем, что тот или иной фермент, связанный с определенным этапом этого распада, может быть неодинаковым в разных тканях. Так, например, последовательное расщепление α -1,4-связей в наружных цепях макромолекулы осуществляется «фосфорилазой» и приводит к образованию глюкозо-1-фосфата. Однако фосфорилаза в мышцах и в печени неодинакова и мутация может затронуть только какую-то одну из них. При одной из форм недостаточности фосфорилазы, известной как болезнь Мак-Ардла, изменена только мышечная фосфорилаза, и гликоген откладывается только в этой ткани [408, 553]. Известны также нарушения, затрагивающие фосфорилазу печени [245]. Вероятно, в действительности случаи недостаточности фосфорилазы еще более разнообразны, поскольку по крайней мере в одном случае было показано, что кажущееся нарушение фосфорилазы печени в действительности обусловлено недостаточностью фермента киназы фосфорилазы, которая необходима для превращения неактивной дефосфорилированной формы фосфорилазы в активную форму [277].

Фосфорилаза расщепляет α -1,4-глюкозидные связи гликогена, но не действует на α -1,6-связи в точках ветвления. Для этого необходима амило-1,6-глюкозидаза — фермент, катализирующий отщепление боковых ветвей. Специфическая недостаточность последнего приводит к накоплению аномального гликогена с необычной структурой, отличного от описанного выше [176, 288]. В молекулах такого гликогена относительно больше точек ветвления (т. е. α -1,6-связей), и наружные цепи макромолекул значительно короче, чем в норме, в особенности при голодании. Ведь, как мы уже говорили, фосфорилаза, которая при этом заболевании присутствует в нормальных количествах, способна лишь отщеплять наружные цепи макромолекул, но действие ее прекращается, как только она приближается к точкам ветвления. При этом рост цепей, катализируемый гликогенсинтетазой, и образование новых точек ветвления под действием амило-(1,4 \rightarrow 1,6)-трансглюкозидазы продолжается, как обычно.

Главным продуктом расщепления гликогена служит глюкозо-1-фосфат, который образуется при ступенчатом действии фосфорилазы на α -1,4-связи. Глюкозо-1-фосфат при участии фосфоглюкомутазы быстро превращается в глюкозо-6-фосфат. Этот последний может далее претерпевать превращения в нескольких различных путях обмена. В печени значительная его часть гидролизуется глюкозо-6-фосфатазой с образованием свободной глюкозы, которая поступает в кровь; это и есть главный метаболический источник глюкозы крови. Глюкозо-6-фосфатаза помимо печени встречается также в почках, но отсутствует в мышцах. Недостаток этого фермента [12] вызывает характерную форму гликогеноза, известную под названием болезнь Гирке [653]. При этом заболевании происходит накопление гликогена в печени и почках, что сопровождается значительным увеличением этих органов; накопления гликогена в мышцах не отмечается. Характерные симптомы заболевания — резко выраженная гипогликемия и сильная задержка роста.

В мышцах глюкозо-6-фосфат в основном претерпевает превращения по гликолитическому пути; при этом большая часть энергии, необходимая для мышечной деятельности, высвобождается в результате распада гликогена до лактата. Один из ферментов, участвующих в этом процессе — фосфофруктокиназа, которая катализирует фосфорилирование фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6-дифосфата. Описана форма гликогеноза, обусловленная сильной недостаточностью фосфофруктокиназы [370, 625]. При этом происходит накопление фруктозо-6-фосфата, глюкозо-6-фосфата, а также самого гликогена. Типичный клинический симптом такого состояния — резко выраженная слабость и ригидность мышц при значительной или продолжительной физической нагрузке.

Особый интерес представляет еще одна форма гликогеноза, так называемая болезнь Помпе, поскольку оказалось, что она вы-

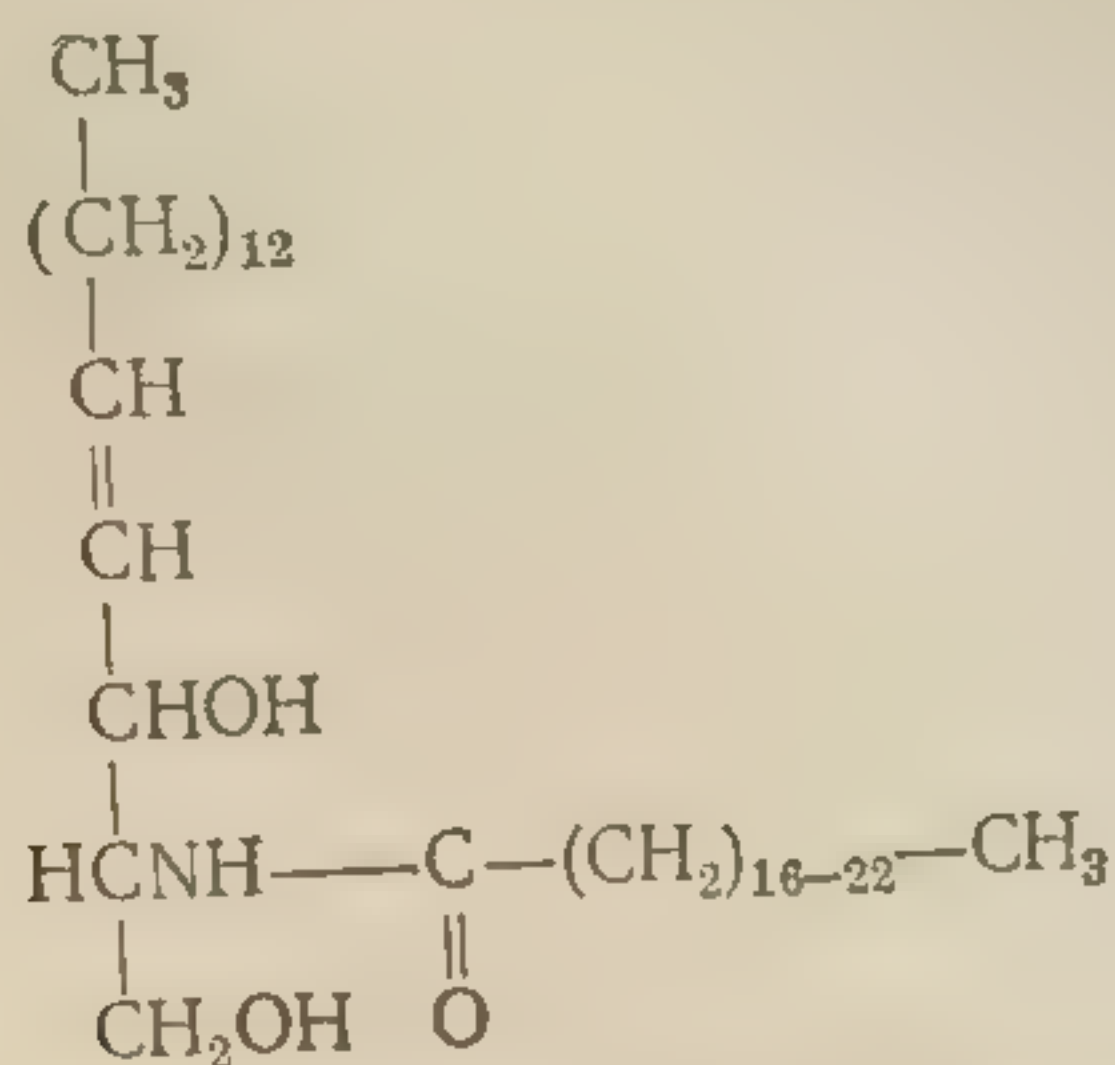
звана недостаточностью фермента, который прежде не связывали с распадом гликогена, а также потому, что она, возможно, служит прототипом ряда других наследственных нарушений, при которых главный эффект состоит во внутриклеточном отложении некоторых сложных макромолекул (см. ниже стр. 180). При этом гликоген накапливается в большинстве тканей тела, причем в особенно большом количестве в миокарде, что сопровождается значительным расширением сердца [545]. У новорожденных это заболевание ничем не проявляется, однако аномалия быстро прогрессирует, и дети часто погибают, не дожив до года. Помимо выраженного отложения гликогена сам по себе углеводный обмен, по-видимому, не нарушен и, казалось бы, все ферменты, участвующие в главных путях распада гликогена, присутствуют в организме в нормальных количествах.

Это заболевание представляло загадку в течение многих лет, пока не было обнаружено [246], что в действительности оно обусловлено недостаточностью α -1,4-глюкозидазы, которая в норме встречается вместе с рядом других гидролитических ферментов в цитоплазматических органеллах, известных под названием лизосом. Эта глюкозидаза, подобно другим лизосомным ферментам, характеризуется низким оптимумом pH (около 4,0). Она гидролизует мальтозу, линейные олигосахариды, а также отщепляет наружные цепи гликогена, освобождая глюкозу. Электронно-микроскопическое исследование печени при болезни Помпе показало, что большая часть гликогена находится в клетке в крупных вакуолях, не наблюдаемых при других формах гликогеноза [35]; некоторая часть гликогена, однако, находится в свободно диспергированном состоянии в цитоплазме, как это имеет место в норме. Эти вакуоли, по-видимому, представляют собой лизосомы, которые резко увеличены и растянуты из-за отложения в них гликогена. Все ферменты лизосом кроме α -1,4-глюкозидазы при болезни Помпе определяются как обычно. Таким образом, недостаточность лизосомной α -1,4-глюкозидазы, по-видимому, при этом специфична. Вероятно, в нормальных клетках гликоген постоянно захватывается и расщепляется лизосомами. При болезни Помпе гликоген попадает в лизосомы по-прежнему, но его разложение в отсутствие глюкозидазы нарушено, и он откладывается в лизосомах, которые при этом разбухают. Это в свою очередь приводит к прогрессирующим дегенеративным изменениям в клетках. Остается все же неясным, почему этот эффект особенно сильно выражен в сердечной мышце.

VII. ДРУГИЕ БОЛЕЗНИ «ДЕПОНИРОВАНИЯ»

Помимо гликогеноза, или так называемой болезни «депонирования гликогена» известен ряд других наследственных расстройств, при которых наиболее выраженным симптомом является прогресси-

рующее отл
ках различн
щества пред
путей синте
туры клеток
в их нормал
называемых
в блокирова
распада дан
ющего гидр
ствие того,
его может
достающим
В табл.
по крайней
цифичной ф
больных ip
При нек
ются липид
дит церами
та с длинно
с жирной к
при таких
тем, какие
сти церами
при болезн
сфингомие
ка, — фосф
Характе
висят от то
нений, нака
рованной и
ни фермен
норме. Рас
12-843



Ф и г. 69. Церамид (N-ацилсфингозин).

рующее отложение сложных веществ определенного типа в клетках различных тканей. По-видимому, во многих случаях такие вещества представляют собой промежуточные продукты нормальных путей синтеза или распада соединений, образующих часть структуры клеток и, предположительно, играющих определенную роль в их нормальной функции. Первичный дефект при большинстве так называемых болезней «депонирования» по-видимому, заключается в блокировании того или иного этапа нормального ступенчатого распада данного соединения в результате выпадения соответствующего гидролитического фермента. Отложение происходит вследствие того, что синтез этого соединения продолжается, а распад его может идти только до той стадии, которая катализируется недостающим ферментом.

В табл. 19 приведен ряд заболеваний, для которых установлен, по крайней мере отчасти, характер отлагающихся соединений и специфичной ферментной недостаточности (при исследовании тканей больных *in vitro*).

При некоторых из этих нарушений (1...4, табл. 19) накапливаются липиды или гликолипиды, в состав которых обязательно входит церамид (фиг. 69). Молекула церамида состоит из аминспирта с длинной цепью (сфингозина), соединенного амидной связью с жирной кислотой, также имеющей длинную цепь. Отлагающиеся при таких заболеваниях соединения различаются между собой тем, какие группы присоединены к углероду-1 сфингозиновой части церамида; например, в глюкоцерамиде, который накапливается при болезни Гоше, в этом положении присутствует глюкоза, а в сфингомиелине, который отлагается при болезни Нимана — Пика, — фосфорилхолин.

Характерные симптомы всех этих различных заболеваний зависят от того, каково в норме распределение тех или иных соединений, накапливающихся у пораженных индивидуумов в недегразированной или частично деградированной форме, а также от степени ферментной недостаточности и от локализации фермента в норме. Рассмотрим один пример. Известны по крайней мере две

ТАБЛИЦА 19

Болезни «депонирования», обусловленные недостаточностью определенных ферментов¹⁾

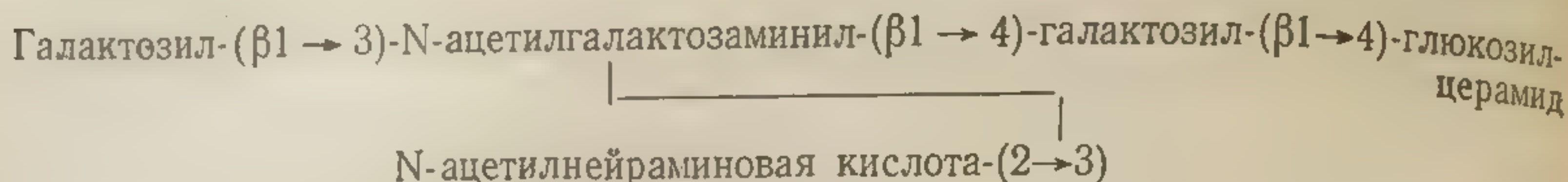
Заболевание	Недостающий фермент	Отлагающееся соединение	Главные места отложения	Источник данных
1. Болезнь Гоше	Глюкоцереброзидаза	Глюкоцереброзид (церамидглюкоза)	Селезенка, печень, костный мозг и головной мозг	[79, 80, 475, 586]
2. Метахроматическая лейкодистрофия	Арилсульфатаза А	Цереброзидсульфат (церамидгалактозо-3-сульфат)	Мозг, почки	[21, 302, 425]
3. Болезнь Фабри	Церамидтригексозидаза	Церамидтригексозид (церамидглюкозогалактозогалактоза)	Кожа, кровеносные сосуды, мозг, кишечник	[77, 78, 612]
4. Болезнь Нимана—Пика	Сфингомиелиназа	Сфингомиелин (церамидфосфориохолин)	Селезенка, печень, мозг	[81, 583]
5. Генерализованный ганглиозидоз	«Кислая» β -галактозидаза	Моносиалоганглиозид (фиг. 70); богатые галактозой кислые мукополисахариды	Мозг, печень	[119, 364, 476, 649]
6. Болезнь Вольмана	«Кислая» липаза	Триглицериды и эфиры холестерина	Печень, надпочечники, селезенка, лимфатические узлы, кишечник	[488]
7. Фукозидоз	α -Фукозидаза	Богатые фукозой кислые мукополисахариды и гликолипиды	Печень, мозг, почки	[649]

¹⁾ См. также табл. 18.

разные формы
различных
скую» формы
при «взрослой»
гические перел
ше затронута
помимо типич
мы, имеет мес
мы. При этом
ческие наруше
как при «взрос
(продолжитель
Оказалось, что
чени и костнол
формах, а так
«детской» фор
ставляет собой
козы. Было пр
этот цереброви
в норме и при
ше активность
активности, оп
«детской» фор
сутствует полн
Вероятно, и
цереброзид, на
служит сложн
структуры стр
троциты распе
дотегнальным
лению. Один и
падае, очевиден
отмечается при
печени. Интенс
количества и кост
копечество ос
системы, веро
вещество, веро
туру, предста
даза, предста
Однако в нер
зиде, оказыва
это лишь в те
кому имеет м
12*

разные формы болезни Гоше, обусловленные, вероятно, мутациями различных генов. Их обычно описывают как «взрослую» и «детскую» формы этого заболевания. Главные клинические симптомы при «взрослой» форме — увеличение селезенки и печени и патологические переломы длинных трубчатых костей. Сравнительно меньше затронута центральная нервная система. При «детской» форме, помимо типичных нарушений, характерных для «взрослой» формы, имеет место тяжелое поражение центральной нервной системы. При этом отмечаются тяжелые прогрессирующие неврологические нарушения, и больные живут обычно всего 1...2 года, тогда как при «взрослой» форме больные живут значительно дольше (продолжительность их жизни варьирует в широких пределах). Оказалось, что в ретикулоэндотелиальных клетках селезенки, печени и костного мозга как при «взрослой», так и при «детской» формах, а также в нейронах центральной нервной системы при «детской» форме накапливается глюкоцереброзид, который представляет собой церамид с присоединенным к нему остатком глюкозы. Было проведено исследование фермента, гидролизующего этот цереброзид на церамид и глюкозу [76, 80, 486], в селезенке в норме и при болезни Гоше. При «взрослой» форме болезни Гоше активность этого фермента в среднем составляла около 15% активности, определяемой в контроле. В то же время у больных с «детской» формой болезни Гоше активность этого фермента отсутствует полностью.

Вероятно, исходным веществом, из которого образуется глюкоцереброзид, накапливающийся в ретикулоэндотелиальных клетках, служит сложный гликолипид (глобозид), который образует часть структуры стромы эритроцитов [76]. По мере своего старения эритроциты распадаются, и это вещество захватывается ретикулоэндотелиальными клетками, где подвергается дальнейшему расщеплению. Один из ферментов, участвующих в этом ступенчатом распаде, очевидно, глюкоцереброзидаза, недостаточность которой отмечается при обеих формах болезни Гоше, хотя и в разной степени. Интенсивность отложения глюкоцереброзида в селезенке, печени и костном мозге, видимо, в значительной мере отражает количество остаточной активности недостающего фермента. Глюкоцереброзид, накапливающийся в нейронах центральной нервной системы, вероятно, образуется из другого вещества, которое представляет собой нормальную составную часть нервных клеток. Это вещество, часто называемое моносиалоганглиозидом, имеет структуру, представленную на фиг. 70. По-видимому, глюкоцереброзидаза принимает участие в расщеплении также и этого вещества. Однако в нервных клетках значительное отложение глюкоцереброзида, оказывающее повреждающий эффект, очевидно, происходит лишь в тех случаях, когда фермент полностью отсутствует, как это имеет место при «детской» форме болезни Гоше. К такому выводу приводит тот факт, что для «взрослой» формы забо-



Ф и г. 70. Моносиалозил-N-тетрагликозилцерамид (моносиалоганглиозид).

левания, когда имеет место лишь частичная недостаточность этого фермента, неврологические нарушения, по-видимому, нетипичны.

Сам моносиалоганглиозид (фиг. 70) накапливается в нервных клетках при другом заболевании, а именно при генерализованном ганглиозидозе. В этом случае, как было показано, полностью отсутствует особая β -галактозидаза, характеризующаяся низким оптимумом pH [476, 649]. В норме этот фермент, по-видимому, катализирует первый этап разложения моносиалоганглиозида — отщепление терминального остатка галактозы. Он, возможно, участвует также в нормальном расщеплении некоторых сложных кислых мукополисахаридов, поскольку при этом заболевании наблюдалось накопление аномально больших количеств этих веществ в печени [649].

Герс [247], обнаружив, что отложение гликогена при болезни Помпе (стр. 176) вызвано специфической недостаточностью лизосомного фермента α -1,4-глюкозидазы, предположил, что некоторые другие болезни «депонирования» также могут иметь аналогичный патогенез. Иными словами, они могут быть обусловлены специфической недостаточностью того или иного из ферментов, локализованных в лизосомах. Лизосомы [146] представляют собой цитоплазматические органеллы, в которых содержится много различных гидролитических ферментов, в большинстве своем имеющих относительно низкий оптимум pH (обычно между 3,0 и 6,0). Эти ферменты, по-видимому, отделены от остального содержимого цитоплазмы клетки тонкой мембраной, которая предотвращает их утечку в окружающую цитоплазму. Лизосомы часто рассматривают как своего рода внутриклеточную переваривающую систему, способную захватывать и разлагать самые разные вещества — полисахариды, липиды, белки и нуклеиновые кислоты.

Герс [247] отметил, что при болезнях «депонирования», вызванных специфической недостаточностью какого-либо лизосомного фермента, можно ожидать, что накапливающееся вещество (или вещества) будет отлагаться в клетке в виде разбухших пузырьков, а не диффузно в цитоплазме. Именно такую картину наблюдали при электронно-микроскопическом исследовании соответствующих тканей при некоторых из тех заболеваний, что приведены в табл. 19. Кроме того, было показано, что ферменты, которые при некоторых из этих заболеваний отсутствуют (например, α -фукозидаза и кислая β -галактозидаза), по крайней мере в печени крысы

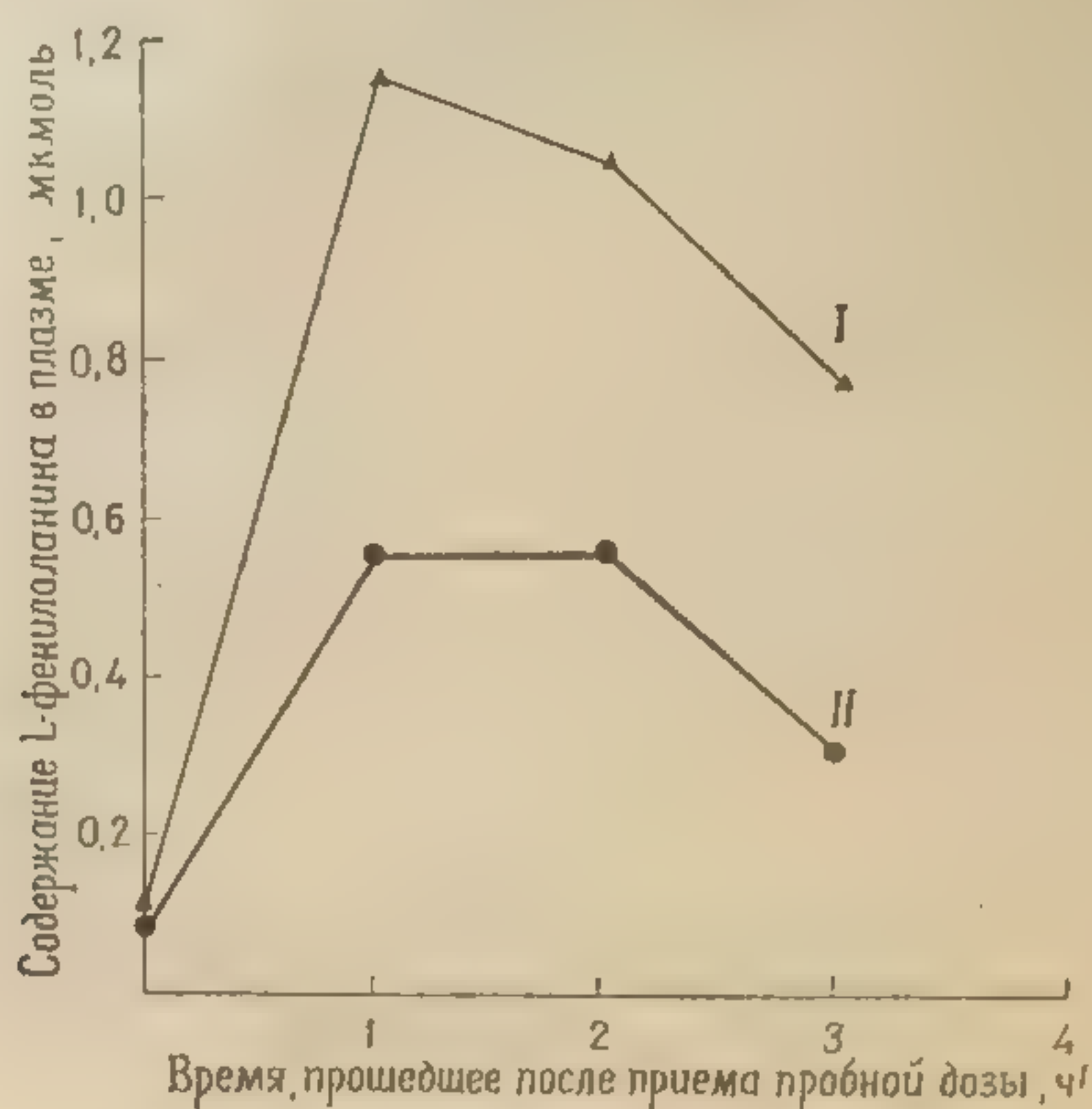
также локализованы в лизосомах. Таким образом, вполне вероятно, что некоторые, а может быть и большинство таких заболеваний относятся к так называемым «лизосомным» болезням.

VIII. ГЕТЕРОЗИГОТЫ

Большинство врожденных нарушений обмена веществ наследуются по рецессивному типу. Это значит, что индивидуумы с типичными метаболическими и клиническими проявлениями заболевания обычно гомозиготны по данному аномальному гену, тогда как гетерозиготы, у которых имеется только одна доза измененного гена и один нормальный аллель, обычно вполне здоровы. При таких заболеваниях наблюдается характерное распределение в семьях. Нарушения проявляются обычно в среднем у одного из четырех sibсов пробанда. Однако у его родителей, детей и других родственников они встречаются редко. Если речь идет о редкой аномалии, то в группах семей с такой аномалией частота кровного родства родителей пораженных индивидуумов, как правило, выше, чем в популяции в целом.

Хотя гетерозиготы практически здоровы, однако у них отмечается частичная недостаточность фермента и нередко проявляются небольшие метаболические нарушения, качественно сходные с теми, которые наблюдаются у пораженных гомозигот. Такие нарушения обычно слабо выражены. Их легче всего выявить, сравнивая группу здоровых родителей и детей пораженных индивидуумов с сопоставимой контрольной группой из общей популяции. Родители и дети пораженных индивидуумов (за очень редкими исключениями, когда речь идет о «свежей» мутации) гетерозиготны. В контроле (т. е. в случайной выборке из общей популяции) почти все индивидуумы являются гомозиготами по нормальному аллелю, если нарушение относится к числу редких.

Обширные исследования такого рода были проведены на индивидуумах, гетерозиготных по гену, который у гомозигот вызывает фенилкетонурию. Содержание фенилаланина в крови у больных фенилкетонурией резко увеличено, обычно в 30 или более раз выше нормы. У родителей больных фенилкетонурией содержание фенилаланина в крови также увеличено [273, 344]. Однако это повышение очень невелико, и в среднем уровень фенилаланина натошак всего раза в полтора выше, чем в контроле. Более того, отмечаются весьма значительные индивидуальные колебания, и хотя разница между средними величинами вполне достоверна, тем не менее эти два распределения в значительной мере перекрываются. Таким образом, отличие гетерозигот не имеет абсолютного характера: у 25% или более гетерозигот содержание фенилаланина в крови находится в пределах нормы. Небольшие метаболические нарушения у этих гетерозигот можно также выявить с помощью нагрузки фенилаланином [272]. Если гетерозиготам давать внутрь



Ф и г. 71. Пробы на переносимость фенилаланина у гетерозиготных родителей больных фенилкетонурией (I) и в контроле (II) [272].

Содержание фенилаланина в плазме определяли натощак и через 1, 2 и 4 ч после приема внутрь L-фенилаланина в дозе 0,1 г/кг. Точки на кривых — средние величины для каждой группы индивидуумов в разные сроки. Эти величины и их стандартные отклонения приведены ниже.

Содержание фенилаланина в плазме, мкмоль/мл						
контроль				гетерозиготы		
время с момента приема	число испытуемых	среднее	стандартное отклонение	число испытуемых	среднее	стандартное отклонение
0 (натощак)	34	0,067	0,032	37	0,103	0,029
1	19	0,55	0,186	19	1,14	0,187
2	19	0,55	0,168	19	1,03	0,187
4	19	0,30	0,076	19	0,76	0,292

определенное количество фенилаланина, то содержание его в крови повышается у них в большей степени, чем в контроле, и возвращается к норме медленнее (фиг. 71). В то же время повышение уровня тирозина в крови после введения фенилаланина у гетерозигот выражено в меньшей степени [305]. Точно так же при внутривенном введении фенилаланина у гетерозигот он исчезает из крови значительно медленнее [85]. Кроме того, нагрузка фенилаланином позволила выявить у гетерозигот нарушения, характерные для более поздних этапов метаболизма этой аминокислоты. Так, у гетерозигот выводится с мочой относительно больше о-оксифенилмолочной кислоты, чем в контроле [49].

Все эти результаты показывают, что у гетерозигот по гену фенилкетонурии имеет место частичная недостаточность фермента фенилаланингидроксилазы в печени. Однако, хотя это и приводит к некоторым нарушениям обмена фенилаланина, каких бы то ни

было патологических симптомов или нарушений развития при этом не наблюдается. Поскольку фенилаланингидроксилаза встречается только в печени, а биопсия печени в отсутствие серьезной патологии не оправдана, прямого определения степени ферментной недостаточности не производили.

Однако другие ферменты шире распространены в тканях, и их прямое определение осуществить гораздо легче. Так, например, хотя обмен галактозы, введенной в организм, происходит главным образом в печени, фермент галактозо-1-фосфат — уридил-трансфераза, недостаточность которого характерна для галактоземии, встречается во многих тканях. Этот фермент легко определять в эритроцитах [142, 333]. При галактоземии этот вид ферментативной активности отсутствует полностью. У здоровых родителей таких больных активность фермента в эритроцитах приблизительно вдвое ниже, чем в норме. Такая частичная недостаточность фермента была выявлена также в культуре клеток, выделенных из ткани кожи, взятой путем биопсии [537]; следовательно, такая недостаточность, вероятно, имеет общий характер. Пробы на переносимость галактозы [260] указывают на то, что эта недостаточность имеет место в печени. После дозированной нагрузки галактозой у родителей больных галактоземией содержание галактозы в крови повышается в среднем сильнее, чем в контроле, а последующее снижение его идет медленнее.

Для изучения гетерозиготных состояний по генам, определяющим многие врожденные нарушения, весьма полезным оказалось исследование *in vitro* ферментов в таких вполне доступных объектах, как эритроциты, лейкоциты и фибробласты кожи, выращенные в культуре. В настоящее время изучено большое число различных заболеваний (табл. 20). В каждом из таких случаев у гетерозигот, по-видимому, имеет место частичная недостаточность того самого фермента, который у больных гомозигот присутствует в очень небольшом количестве или отсутствует полностью. Как общее правило, у гетерозигот средний уровень ферментативной активности оказывается промежуточным между очень низкими величинами, характерными для пораженных гомозигот, и величинами, которые выявляют в случайных выборках из общей популяции (контроль). В тех случаях, например, когда у гомозигот фермент полностью или почти полностью отсутствует, активность фермента у гетерозигот обычно составляет 50% величин, определяемых у гомозигот по нормальному аллелю. Таким образом, здесь, по-видимому, имеет место простое соотношение доз генов. При наличии двух доз нормального аллеля, т. е. у гомозигот по этому аллелю, образуется вдвое больше фермента, чем при наличии одной дозы, т. е. у гетерозигот; при этом, по-видимому, сколько-нибудь заметного компенсаторного повышения активности нормального аллеля у гетерозигот обычно не отмечается. Возможно, однако, что из этого общего правила имеются исключения, поскольку в ряде случаев,

ТАБЛИЦА 20

Врожденные нарушения обмена, при которых у клинически здоровых гетерозигот выявляется частичная недостаточность ферментов в тканях

Заболевание	Фермент	Объект исследования	Источник данных
1. Гистидинемия	Гистидаза (гистидиндезаминаза)	Кожа	[259, 362]
2. Гомоцистинурия	Цистатионинсинтетаза	Печень	[172]
3. Болезнь кленового сиропа	Декарбоксилаза (декарбоксилазы) кетокислот с разветвленной цепью	Лейкоциты	[122, 204, 206]
4. Аргининосукцинацидурия	Аргининосукциназа	Эритроциты	[633]
5. Недостаточность гексокиназы	Гексокиназа (изофермент эритроцитов)	Эритроциты	[643]
6. Недостаточность фосфогексоизомеразы (глюкозофосфатизомеразы)	Фосфогексоизомераза (глюкозофосфатизомераза)	Эритроциты	[36, 479]
7. Недостаточность триозофосфатизомеразы	Триозофосфатизомераза	Эритроциты и лейкоциты	[556, 644]
8. Недостаточность пируваткиназы	Пируваткиназа	Эритроциты	[621, 622, 642]
9. Недостаточность дифосфоглицератмутаза	Дифосфоглицератмутаза	Эритроциты	[560]
10. Недостаточность глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназы (чувствительность к примаксину, фавизм и т. д.)	Глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназа	Эритроциты	См. стр. 131—144
11. Недостаточность галактокиназы	Галактокиназа	Эритроциты	[200]
12. Галактоземия	Галактозо-1-фосфат—уридилтрансфераза	Эритроциты, лейкоциты и фибробласты в культуре	[142, 279, 333, 537]
13. Болезнь Форбса (гликогеноз типа III)	Амило-1,6-глюкозидаза	Лейкоциты, эритроциты	[281, 648, 686]
14. Болезнь Андерсена (гликогеноз типа IV)	Амило-(1,4 → 1,6)-трансглюкозидаза	Лейкоциты	[371]
15. Акаталазия	Каталаза	Эритроциты	[2, 3, 468]
16. Врожденная метгемоглобинемия	Метгемоглобинредуктаза	Эритроциты	[562]
17. Оротацидурия	Оротидин-5'-фосфатдекарбоксилаза и оротидин-5'-фосфатпирофосфорилаза	Лейкоциты, фибробласты в культуре	[168, 353, 585]
18. Чувствительность к суксаметонию	Сывороточная хилинэстераза (псевдохолинэстераза)	Сыворотка	См. стр. 120
19. Гипофосфатазия	Сывороточная щелочная фосфатаза	Сыворотка	[116, 518]
20. Недостаточность глутатионпероксидазы эритроцитов	Глутатионпероксидаза	Эритроциты	[462]

как следует из некоторых, хотя и неполных, данных, средний уровень активности у гетерозигот может быть выше (например, при швейцарской форме акаталазии [4]) или ниже (например, при оротацидурии [168]), чем можно ожидать исходя из простого соотношения доз. Если эти данные подтвердятся, то более детальный анализ этих необычных случаев представит несомненный интерес.

Хотя средний уровень ферментативной активности у гетерозигот обычно значительно ниже, чем у гомозигот по нормальному гену, следует отметить, что всегда имеют место значительные отклонения в обе стороны от средней величины. Оба распределения обычно перекрываются, и по ферментативной активности не всегда удастся безошибочно идентифицировать гетерозиготы. Такие колебания часто обусловлены главным образом внешними, негенетическими факторами, и нередко можно добиться более четкого разграничения гетерозигот и гомозигот путем идентификации таких факторов и их исключения из системы. Однако в некоторых случаях такие колебания, по крайней мере отчасти, имеют, вероятно, генетическую природу. Они могут объясняться, например, существованием нескольких различных «нормальных» аллелей, из которых каждый дает свой средний уровень активности в пределах нормы, или различных «аномальных» аллелей, обуславливающих разную степень недостаточности. Другая возможность состоит в том, что на общий уровень данного фермента могут влиять изменения генов в других локусах.

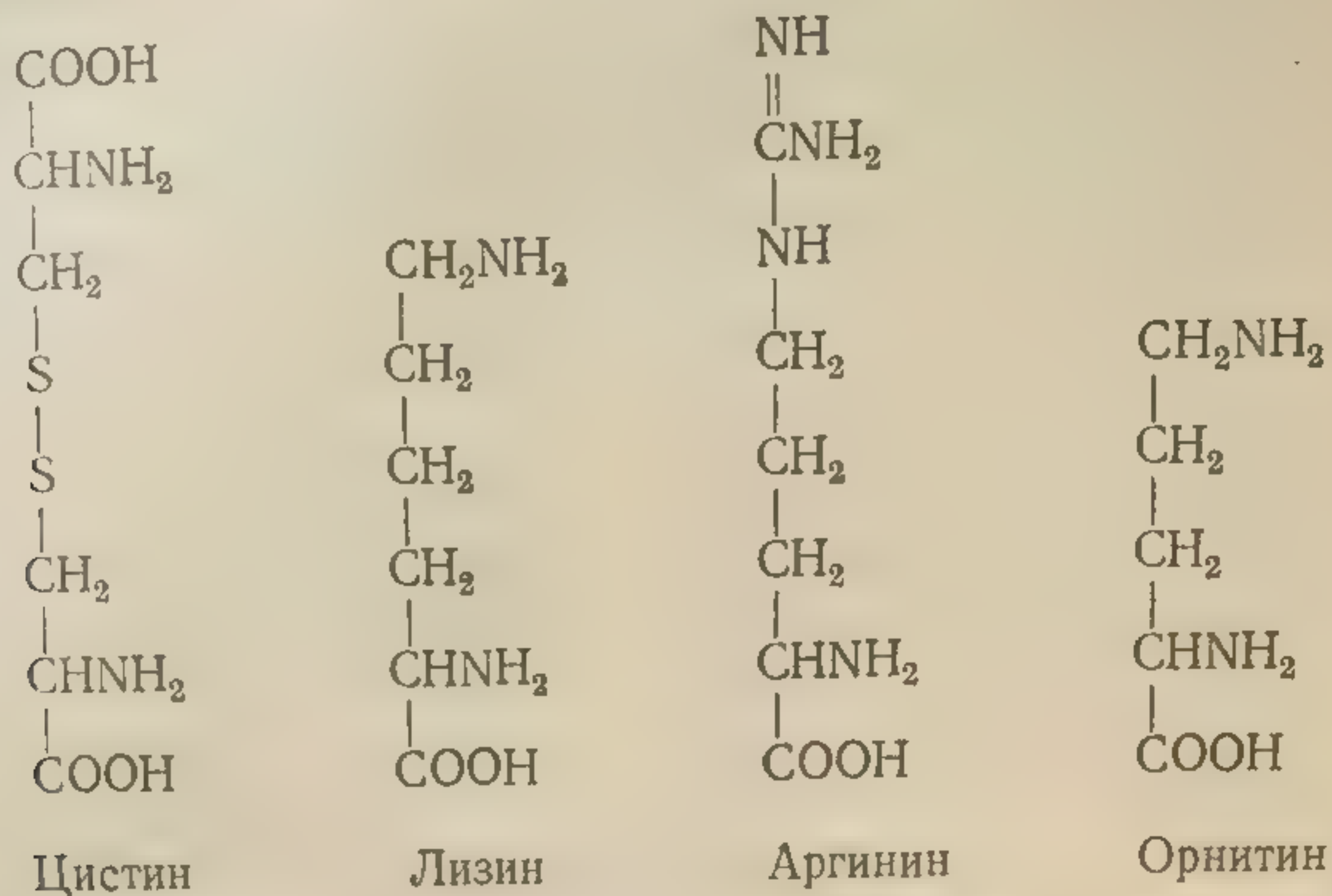
Поскольку индивидуумы, гетерозиготные по генам, определяющим врожденные нарушения обмена, обычно вполне здоровы, можно считать, что у соответствующих гомозигот по нормальному аллелю фермент содержится в количествах, значительно превышающих те, которые необходимы для нормальной метаболической функции. Снижение даже до половины нормального уровня может не приводить к видимым патологическим нарушениям; таким образом, в данном случае имеется значительный функциональный резерв. Хотя это несомненно справедливо для многих, а возможно для большинства ферментов, это, видимо, относится не ко всем ферментам. В этом последнем случае, т. е. когда функциональный резерв незначителен, если активность будет снижена вдвое по сравнению с нормой, то это может привести к выраженной патологии. У индивидуумов, гетерозиготных по гену, определяющему резкую недостаточность таких ферментов, должны проявляться весьма характерные клинические нарушения. Можно ожидать, что при таких заболеваниях будет отмечаться характерное распределение в семьях. Эти аномалии должны передаваться непосредственно от родителей к детям в последовательных поколениях, и в среднем около половины детей от браков между пораженными и непораженными индивидуумами должны иметь данное нарушение. Иными словами, такие заболевания должны наследоваться по доминантному типу. У гомозигот по аномальному гену нарушение

аминокислот. Известны также нарушения транспорта других веществ (например, глюкозы при почечной гликозурии). Однако не приходится сомневаться в том, что существует множество аномалий такого рода, которые еще только предстоит обнаружить.

1. Цистинурия

Это заболевание впервые было обнаружено в прошлом столетии. Оно характеризуется тенденцией к образованию почечных камней, состоящих почти полностью из цистина. При этом у больных постоянно выделяются большие количества цистина с мочой, и в свое время Гаррод включил это расстройство в число болезней, которые он называл «врожденными нарушениями обмена». В то время, а также много лет спустя полагали, что при этом нарушении блокируется какой-то этап нормального катаболизма цистина, что приводит к накоплению этой аминокислоты и вследствие этого к выделению ее с мочой в аномально больших количествах. Однако оказалось, что дело вовсе не в этом и что выведение избыточного количества цистина с мочой вызывается нарушением его реабсорбции из клубочкового фильтрата в почечных канальцах [133]. Так, содержание цистина в плазме не только не превышает нормы, как следовало бы ожидать, если бы происходило его накопление, но было ниже нормы. Оказалось также, что цистин — не единственная аминокислота, которую затрагивает это нарушение. Было обнаружено, что у больных цистинурией в больших количествах выводятся также основные аминокислоты — лизин, аргинин и орнитин (фиг. 72), и почечный клиренс этих аминокислот, так же как и цистина, значительно повышен [18, 135, 143]. Таким образом, в данном случае, по-видимому, имеет место специфическое нарушение всасывания в почечных канальцах четырех аминокислот, нормально встречающихся в плазме, а именно цистина, лизина, аргинина и орнитина. При этом всасывание других аминокислот не нарушено.

Позже такая же точно аномалия активного транспорта была обнаружена в клетках слизистой тонкой кишки у больных цистинурией; она выражается в пониженном всасывании этих аминокислот из кишечника. Эта аномалия была выявлена вначале в опытах по питанию на целом организме [429], однако специфический характер этого нарушения впоследствии был изучен в исследованиях *in vitro* по концентрированию этих и других аминокислот в экспериментах с небольшими кусочками слизистой тощей кишки, взятыми путем биопсии у больных цистинурией и у здоровых индивидуумов (контроль) [409, 631, 632]. Результаты этих экспериментов подтвердили наличие общего нарушения транспорта этих четырех аминокислот при цистинурии. Они показали также, что между этими четырьмя аминокислотами существуют конкурентные взаимоотношения (в опытах по концентрированию).



Ф и г. 72. Аминокислоты, выделяемые в избытке при цистинурии.

Интересно отметить, что ни пониженная скорость всасывания в кишечнике, ни аномальное выделение этих четырех аминокислот с мочой обычно не приводят к нарушениям роста и развития, обусловленным алиментарной недостаточностью. По-видимому, то количество белка, которое обычно потребляется с пищей, значительно превышает минимальные потребности. Все клинические проявления этого нарушения сводятся к образованию цистиновых камней и закупорке ими мочевых путей с вторичным поражением почек. У больных цистинурией выделяется с мочой в среднем около 2,0 г лизина, 1,0 г аргинина, 0,75 г цистина и 0,4 г орнитина в сутки. Цистин относительно плохо растворим, и в моче при pH от 5,0 до 7,0 в растворенном состоянии находится всего около 0,3...0,4 г цистина на 1 л [134]. У больных, у которых выделение цистина составляет 0,5...1,0 г в сутки, концентрация его в моче часто достигает уровня насыщения, в особенности ночью, когда моча наиболее концентрирована. Цистин поэтому легко выпадает из раствора, что приводит к образованию конкрементов. В то же время лизин, аргинин и орнитин хорошо растворимы и поэтому не образуют камней. В зависимости от количества потребляемой жидкости и от других физиологических различий склонность больных цистинурией к образованию камней, по-видимому, варьирует в широких пределах даже при одном и том же количестве цистина в моче. Некоторые из них могут годами не испытывать никакого беспокойства, тогда как у других симптомы поражения почек появляются уже в раннем возрасте.

Детальный генетический анализ цистинурии был начат с количественного определения различных аминокислот в моче больных и их родственников. Вскоре выяснилось, что это нарушение в генетическом отношении весьма гетерогенно [230, 231]. В одной группе семей были выявлены индивидуумы, у которых выведение

цистина. Лизин
з также индив
было вполне хо
семьях, пораже
по одному аном
зиготы по нор
Поэтому это на
В другой гр
ия. Можно бы
ко повышенным
на; 2) с умерен
несколько повы
и орнитина; 3)
лот. Такой хара
что индивидуум
аминокислот в м
ному гену, тогд
ренно повышенн
зиготными. Эта
рецессивной» ц
Таким образ
крайней мере дв
каждому из эти
одинакова, так
С гетерозиготам
му из этих ген

Три типа цистин
лизина и арг
получ
и по

Контроль
Больные цистину
Тип I
Тип II
Тип III

1) Величина 1,0 у
ны, превышающие 1,0

цистина, лизина, аргинина и орнитина было резко повышенным, а также индивидуумы, у которых выделение этих аминокислот было вполне нормальным. Судя по характеру распределения в семьях, пораженные индивидуумы, вероятно, были гомозиготны по одному аномальному аутосомному гену. Предполагаемые гетерозиготы по нормальному аллелю были неотличимы от гомозигот. Поэтому это нарушение было названо «рецессивной» цистинурией.

В другой группе семей имела место совершенно иная ситуация. Можно было различить три категории индивидуумов: 1) с резко повышенным выведением цистина, лизина, аргинина и орнитина; 2) с умеренно повышенным выделением цистина и лизина и несколько повышенным или нормальным выведением аргинина и орнитина; 3) с нормальным выведением всех четырех аминокислот. Такой характер распределения в этих семьях указывал на то, что индивидуумы с резко повышенным содержанием всех четырех аминокислот в моче скорее всего были гомозиготными по аномальному гену, тогда как индивидуумы промежуточного типа (с умеренно повышенным содержанием цистина и лизина) были гетерозиготными. Эта форма заболевания была названа «неполностью рецессивной» цистинурией.

Таким образом, цистинурию могут вызывать, по-видимому, по крайней мере два различных аномальных гена. У гомозигот по каждому из этих генов степень отклонения от нормы в среднем одинакова, так что они фенотипически неотличимы друг от друга. С гетерозиготами дело обстоит по-другому. У гетерозигот по одному из этих генов заметных отклонений от нормы не наблюдается,

ТАБЛИЦА 21

Три типа цистинурии, различаемые по уровню активного транспорта цистина, лизина и аргинина (на материале исследования *in vitro* препаратов, полученных путем биопсии тощей кишки от гомозигот, и по данным о выделении цистина и лизина с мочой у соответствующих гетерозигот)¹⁾

	Активный транспорт веществ в кишечнике у гомозигот			Выделение цистина и лизина с мочой у гетерозигот
	цистин	лизин	аргинин	
Контроль	$7,0 \pm 1,4$	$11,2 \pm 1,6$	$28,3 \pm 1,3$	Нормальное
Больные цистинурией				
Тип I	$1,1 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,2$	Нормальное
Тип II	$2,4 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,2$	Не определялось	Повышенное
Тип III	$4,1 \pm 2,8$	$4,2 \pm 3,0$	$6,6 \pm 3,3$	Повышенное

¹⁾ Величина 1,0 указывает на отсутствие активного транспорта данной аминокислоты. Величины, превышающие 1,0, указывают на различную степень активного транспорта [531, 533].

тогда как у гетерозигот по другому гену отмечается частичное нарушение обратного всасывания аминокислот в почечных канальцах. Количества цистина и лизина, выводимые с мочой у гетерозигот по цистинурии «неполностью рецессивного» типа, весьма различны, но четко коррелируют между собой. В некоторых случаях уровень цистина может быть достаточно высоким, для того чтобы привести к отложению камней, однако это бывает редко. В то же время у аномальных гомозигот обоих типов такой высокий уровень цистина — явление весьма частое.

Изучение активного концентрирования в биопсийных препаратах тощей кишки, полученных от разных больных, выявило еще большую генетическую сложность описываемой аномалии [531, 533]. В ходе исследований удалось выявить три типа гомозигот (табл. 21). К типу I относятся гомозиготы по так называемой рецессивной цистинурии, поскольку у соответствующих гетерозигот выведение аминокислот с мочой не отклоняется от нормы. К типам II и III относятся гомозиготы, состояние которых ранее было описано как «неполностью рецессивная» цистинурия. У гомозигот типа I концентрирование этих аминокислот *in vitro* в опытах с кусочками тощей кишки полностью отсутствует, у гомозигот типа II имеет место незначительная активность, а у гомозигот типа III концентрирование происходит более интенсивно, хотя в среднем оно ниже, чем в контроле (т. е. у индивидуумов, не пораженных цистинурией). Типы II и III различаются также по степени аминокислотурии, отмечаемой у соответствующих гетерозигот (для типа II она несколько более выражена, чем для типа III).

Материалы обследования семей также говорят в пользу того, что имеется три различных аномальных гена, которые могут обуславливать это заболевание. Каждый из этих генов, по-видимому, нарушает процесс активного транспорта особым образом. Далее, в ряде случаев удалось показать, что некоторые индивидуумы, у которых отмечается повышенное выведение всех четырех аминокислот с мочой, являются, вероятно, двойными гетерозиготами по разным парам этих аномальных генов (например, I—II, I—III или II—III). Отсюда можно сделать вывод, что эти гены могут быть аллельными и что каждый из них изменяет структуру одного и того же фермента или белка-носителя, но различным образом. Однако природа этого постулируемого белка неизвестна. Вполне возможно, что если он содержит две неодинаковые полипептидные цепи, то его функциональные свойства могут изменяться под влиянием мутаций не только в одном локусе. Особый интерес представляет, например, то до сих пор не получившее объяснения обстоятельство, что ген, определяющий цистинурию типа I, который у гомозигот вызывает, по-видимому, наиболее сильные нарушения транспорта в тощей кишке, у гетерозигот не приводит к сколько-нибудь выраженным нарушениям функции почек; ■ то же время гены, определяющие цистинурию типа II и типа III, которые, види-

мо, вызывают
мозигот, у ге
функции почк
нию аминокис
типов гомозиг

2. Другие нару

Другое гене
нокислот связ
366]. Все эти т
больших колич
(по-видимому,
всасывания в п
неблагоприятн
гот наблюдаетс
деление одного
реабсорбции ам
канальцах пере
общей системой
служит какой-т
вующего в данн
заболевании на
ка [207].

Прол
Окси
Глиц

Общий мех
и, вероятно, в
обширной груп
треонин, аспар
аланин, тирозин
деляются с мо
известном по

мо, вызывают менее выраженные нарушения в тощей кишке у гомозигот, у гетерозигот приводят к значительному нарушению функции почек. Насколько можно судить по аномальному выделению аминокислот с мочой, нарушение функции почек у всех трех типов гомозигот, по-видимому, примерно одинаково.

2. Другие нарушения транспорта аминокислот

Другое генетически обусловленное нарушение транспорта аминокислот связано с глицином, пролином и оксипролином [535, 566]. Все эти три аминокислоты выделяются с мочой в аномально больших количествах у пораженных этим заболеванием гомозигот (по-видимому, вследствие специфического нарушения обратного всасывания в почечных канальцах) (табл. 22). При этом, однако, неблагоприятные патологические явления отсутствуют. У гетерозигот наблюдается повышенный почечный клиренс и аномальное выделение одного глицина. Эти результаты указывают на то, что при реабсорбции аминокислот из клубочкового фильтрата в почечных канальцах перенос всех этих трех аминокислот осуществляется общей системой транспорта. По-видимому, причиной аномалии служит какой-то дефект фермента или белка-переносчика, участвующего в данном специфическом транспортном пути. При этом заболевании нарушено также всасывание пролина из кишечника [207].

ТАБЛИЦА 22

Врожденная почечная иминоглицинурия [565]

	Обратное всасывание из клубочкового фильтрата в почечных канальцах, %		
	норма	гетерозиготы	гомозиготы
Пролин	99,8	99,8	80
Оксипролин	100	100	65
Глицин	93	84	65

Общий механизм транспорта в клетках почечных канальцев и, вероятно, в слизистой кишечника существует, по-видимому, для обширной группы аминокислот, в которую входят аланин, серин, треонин, аспарагин, глутамин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан, гистидин и цитруллин. Все они выделяются с мочой в повышенных количествах при заболевании, известном под названием болезнь Гартнапа. Предполагается, что

при этом заболевании происходит какое-то нарушение этого общего механизма транспорта.

Болезнь Гартнапа [304] первоначально была описана как наследственное заболевание, характеризующееся кожной сыпью, напоминающей сыпь при пеллагре, преходящей мозжечковой атаксией, постоянной почечной аминоацидурией и другими необычными биохимическими изменениями [34]. Это описание хорошо отражает картину заболевания, однако следует отметить, что симптоматика может быть весьма разнообразной. Для этого заболевания характерно также выделение с мочой в различных количествах некоторых производных триптофана, в особенности индоксилсульфата и индолилуксусной кислоты. Эти производные, вероятно, образуются в результате повышенного распада триптофана под действием бактериальной флоры кишечника, что происходит вследствие задержки всасывания этой аминокислоты [429]. Возможно, некоторые клинические проявления этого заболевания вызываются действием токсических продуктов, образующихся при разложении триптофана или других аминокислот под действием бактериальной флоры кишечника. Однако точного представления об этом пока нет. Несмотря на то что при болезни Гартнапа симптомы довольно разнообразны, для всех больных отмечается одинаковая весьма своеобразная картина выделения аминокислот. Судя по распределению в семьях, такие больные гомозиготны по редкому аутосомному гену. Однако у предположительных гетерозигот никаких отклонений от нормы до сих пор не обнаружено.

Таким образом, описанные аномалии затрагивают три различные системы транспорта аминокислот в почках и, вероятно, также в кишечнике. Это система транспорта, во-первых, цистина, лизина, аргинина и орнитина, во-вторых, глицина, пролина и оксипролина, и, наконец, в-третьих, большой группы аминокислот, в которую входят главным образом моноаминомонокарбоновые аминокислоты, выделяющиеся в избытке при болезни Гартнапа. Каждая из этих систем, по-видимому, может быть специфически блокирована (по крайней мере частично) в результате соответствующей мутации. Однако имеются данные, указывающие на то, что в почках существуют также другие системы, связанные с транспортом некоторых из этих аминокислот [532, 565, 567]. Эти системы могут быть специфичными только для одной (или нескольких) аминокислот из трех описанных выше групп и, вероятно, зависят от мутаций в других локусах. Возможно, они различаются по эффективности и по кинетике, и та или иная аминокислота может в большей или меньшей степени, в зависимости от условий, переноситься более чем одной системой активного транспорта. Таким образом, различные мутации могут давать целый ряд разнообразных эффектов.

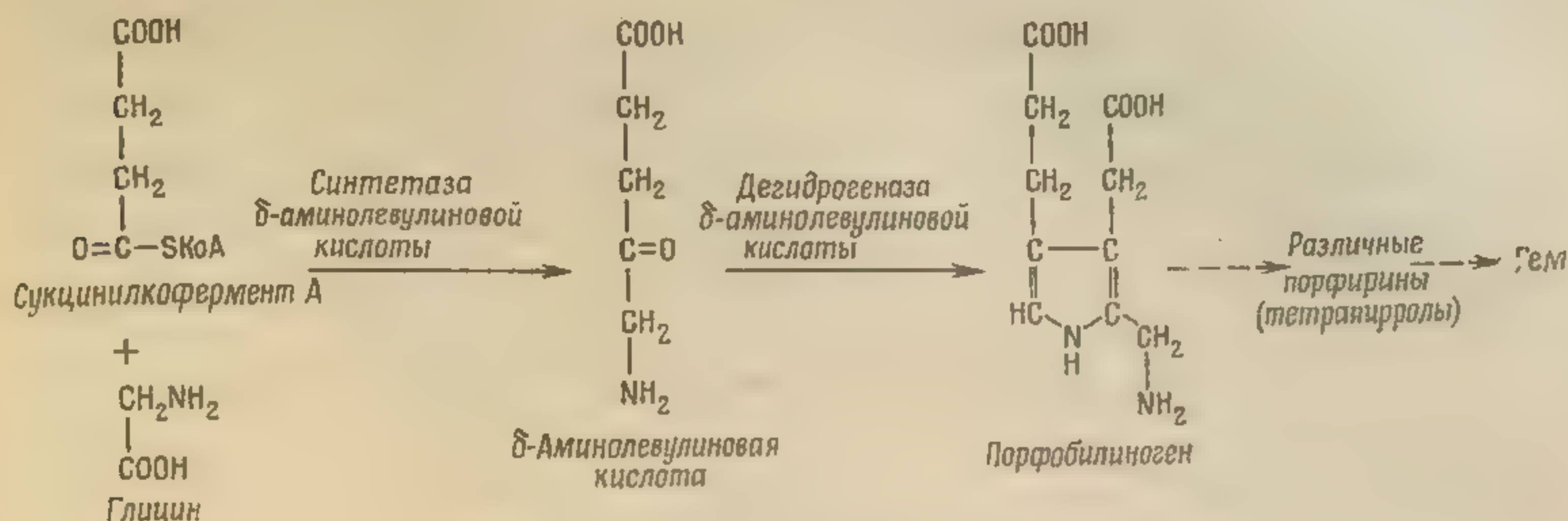
Х. ВРОЖДЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

1. Недостаточность ферментов и метаболизм фармакологических препаратов

Давно известно, что у некоторых людей прием тех или иных лекарств в нормальных дозах иногда вызывает резко аномальную реакцию, которая может привести к весьма нежелательным клиническим последствиям. Оказалось, что некоторые из этих так называемых медикаментозных идиосинкразий связаны с наследственными дефектами ферментов, по существу своему сходными с теми, которые имеют место при классических типах врожденных нарушений обмена веществ.

Фермент, с которым связано такое нарушение, может принимать участие в нормальном метаболизме лекарственного вещества, и недостаточность ферментативной активности может сказаться в том, что это вещество или какое-либо из его фармакологически активных производных будет накапливаться в организме в более высоких концентрациях, чем в норме; в результате эффект стандартной дозы значительно усилится. Выше мы уже рассматривали пример такого рода, когда у некоторых людей после введения мышечного релаксанта суксаметония отмечается ненормально длительный паралич дыхания. Эта аномалия объясняется дефектом сывороточной холинэстеразы. Было показано, что повышенная чувствительность к суксаметонию зависит от наличия определенных аллелей, которые либо обуславливают синтез измененной формы фермента с необычной кинетикой, неспособного с достаточной скоростью гидролизовать суксаметоний, либо полностью подавляют синтез фермента. При этом лекарственное вещество не гидролизуются и в течение длительного периода остается в организме в фармакологически активной форме в относительно высоких концентрациях.

В других случаях специфическая недостаточность фермента может обусловить идиосинкразию к лекарственному веществу вследствие того, что она приводит к аномальному метаболическому состоянию в определенных клетках, которые в результате утрачивают способность эффективно преодолевать некоторые вторичные эффекты, связанные с фармакологическим действием этого препарата, безвредного при нормальном течении обмена веществ. Примером ситуации такого рода может служить случай глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы. Известен ряд структурных вариантов этого фермента, которые различным образом обуславливают резкую недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активности в эритроцитах (см. выше, гл. V). При обычных типах недостаточности глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы аномалия, как правило, клинически не проявляется, хотя обмен в эритроцитах



Ф и г. 73. Начальные стадии биосинтеза гема.

рактальные различия. Так, например, при *porphyria variegata* часто наблюдаются поражения кожи, обусловленные повышенной чувствительностью к действию солнечного света или даже вызванные незначительными механическими воздействиями; такие кожные симптомы при острой интермиттирующей порфирии не встречаются. В то же время при обоих заболеваниях имеют место нерегулярные острые приступы с абдоминальными и неврологическими явлениями, очень сходные по своему характеру, причем и в том, и в другом случае эти приступы особенно легко вызываются барбитуратами.

Характерное биохимическое проявление обоих этих заболеваний — выведение с мочой резко повышенных количеств δ-аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена, которые служат нормальными промежуточными продуктами биосинтеза гема (фиг. 73). Эти вещества образуются в печени в избыточных количествах, особенно при острых приступах. Они поступают в кровь и затем выводятся с мочой. При острой интермиттирующей порфирии между приступами отмечается умеренно повышенное выделение этих метаболитов, что может наблюдаться также у носителей этого гена, у которых нет никаких клинических отклонений от нормы. При *porphyria variegata* между приступами выделение этих веществ с мочой увеличено не столь сильно и часто оказывается в пределах нормы. Однако для *porphyria variegata*, но не для острой интермиттирующей порфирии, характерно постоянное выделение аномально больших количеств протопорфирина и копропорфирина с калом, причем это часто отмечается даже при бессимптомном течении заболевания [33].

Природа метаболического нарушения при этих заболеваниях выяснена далеко неполностью. δ-Аминолевулиновая кислота и порфобилиноген, по-видимому, образуются в чрезмерно больших количествах в клетках печени, но, вероятно, не образуются в кровеносных клетках костного мозга. Было показано, что у больных с острой интермиттирующей порфирией резко повышен уровень активности в печени одного митохондриального фермента, а именно

синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты, которая в норме катализирует образование δ -аминолевулиновой кислоты из глицина и сукцинилкофермента А [144, 455, 640]. Аналогичное повышение активности синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты обнаружено в печени также при *porphyria variegata* [144]. Это наблюдение представляет значительный интерес уже по одному тому, что в данном случае мы сталкиваемся с первым примером врожденного нарушения обмена, связанного с резким повышением уровня определенного фермента, что находится в разительном контрасте с обычно наблюдаемой при врожденных болезнях обмена картиной, когда, как правило, имеет место, напротив, недостаточность фермента.

Повышенный уровень фермента при острой интермиттирующей порфирии и при *porphyria variegata* может объяснить увеличение количества δ -аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена в печени таких больных, но причина кишечных и неврологических симптомов остается далеко не ясной.

Повышенный уровень активности синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты в печени у гетерозиготных индивидуумов свидетельствует о том, что в данном случае речь идет о мутациях оператора, который в норме регулирует скорость синтеза этого фермента [208, 493, 640]. Впрочем, не исключены и другие варианты объяснения, однако сведений, которыми мы в настоящее время располагаем, недостаточно для того, чтобы сделать обоснованный выбор между ними. Интересно отметить следующее. Экспериментальные исследования на печени различных животных показали, что повышенный синтез синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты могут вызывать многие вещества, в том числе такие, которые стимулируют острые приступы при интермиттирующей порфирии и *porphyria variegata* у человека. Итак, выраженный эффект лекарственных веществ в этих условиях можно было бы объяснить исходя из допущения, что они взаимодействуют с какой-то системой регуляции синтеза данного фермента, которая уже затронута аномалией. Однако природа возможных взаимодействий такого рода остается пока неизвестной.

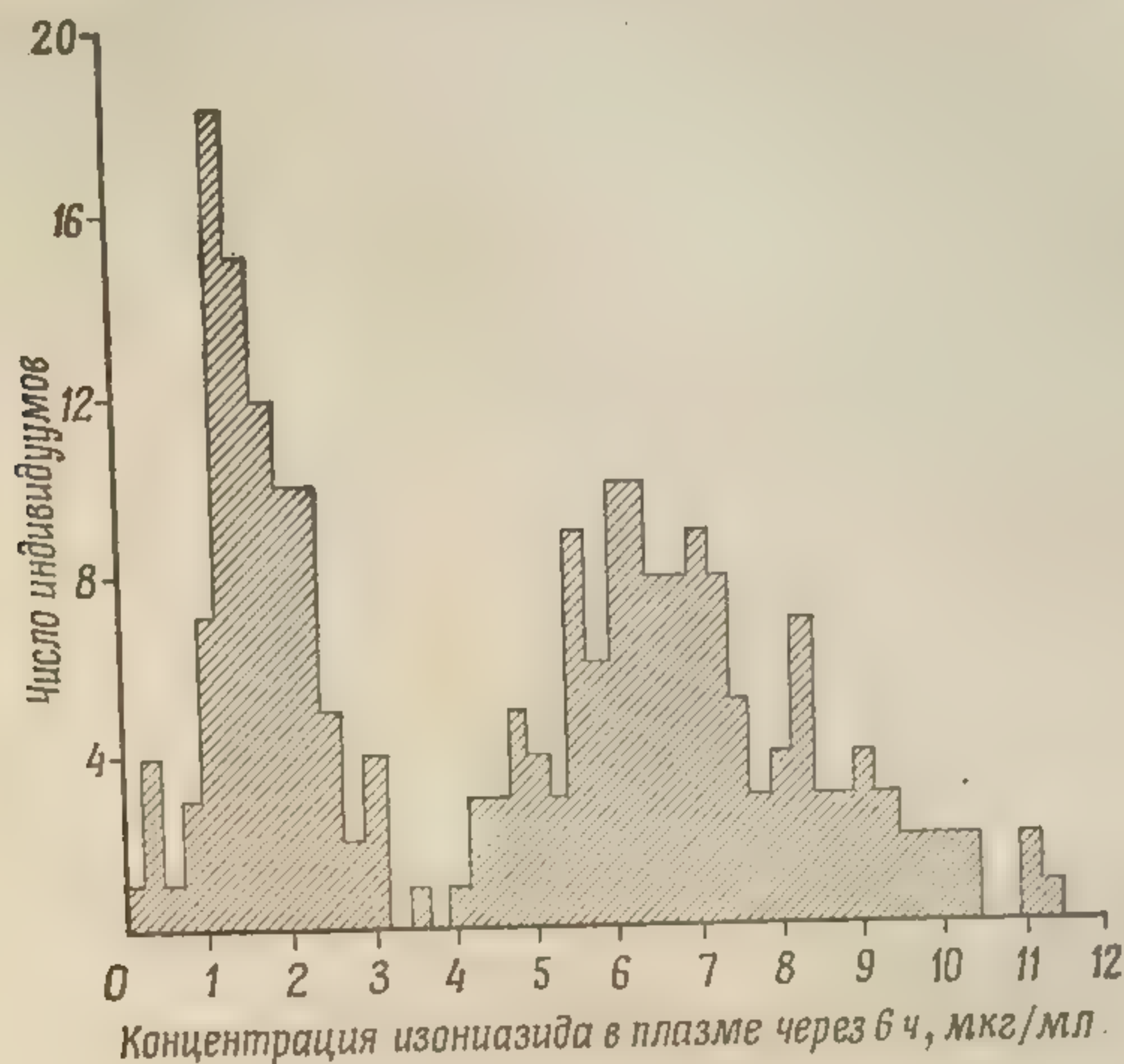
3. Инактивация изониазида

Иногда генетически обусловленные различия в активности того или иного фермента могут выразиться в резких различиях в характере обмена одного и того же лекарственного вещества у разных индивидуумов, хотя это может и не приводить к выраженным клиническим последствиям. Рассмотрим пример с ацетилированием изониазида — препарата, широко применяемого в химиотерапии туберкулеза. Изониазид в ацетилированной форме гораздо менее активен терапевтически, а также менее токсичен; иначе говоря, ацетилирование представляет собой эффективный механизм его инактивации.

Фиг. 74. Распределение из 220 индивидуумов Доза изониазида на

Вскоре после туберкулеза, было различаются м да путем ацетилиума характер ме устойчив [39, 278] ии изониазида в нее четко различ стандартную дозу наугад, и через не ииазида в крови, ко бимодальным ваторов уровень после приема инактиваторов он значительно бол в ацетилированной оно выделяется в форме. Как показыва терминированы претировать исхо протраненных готны по

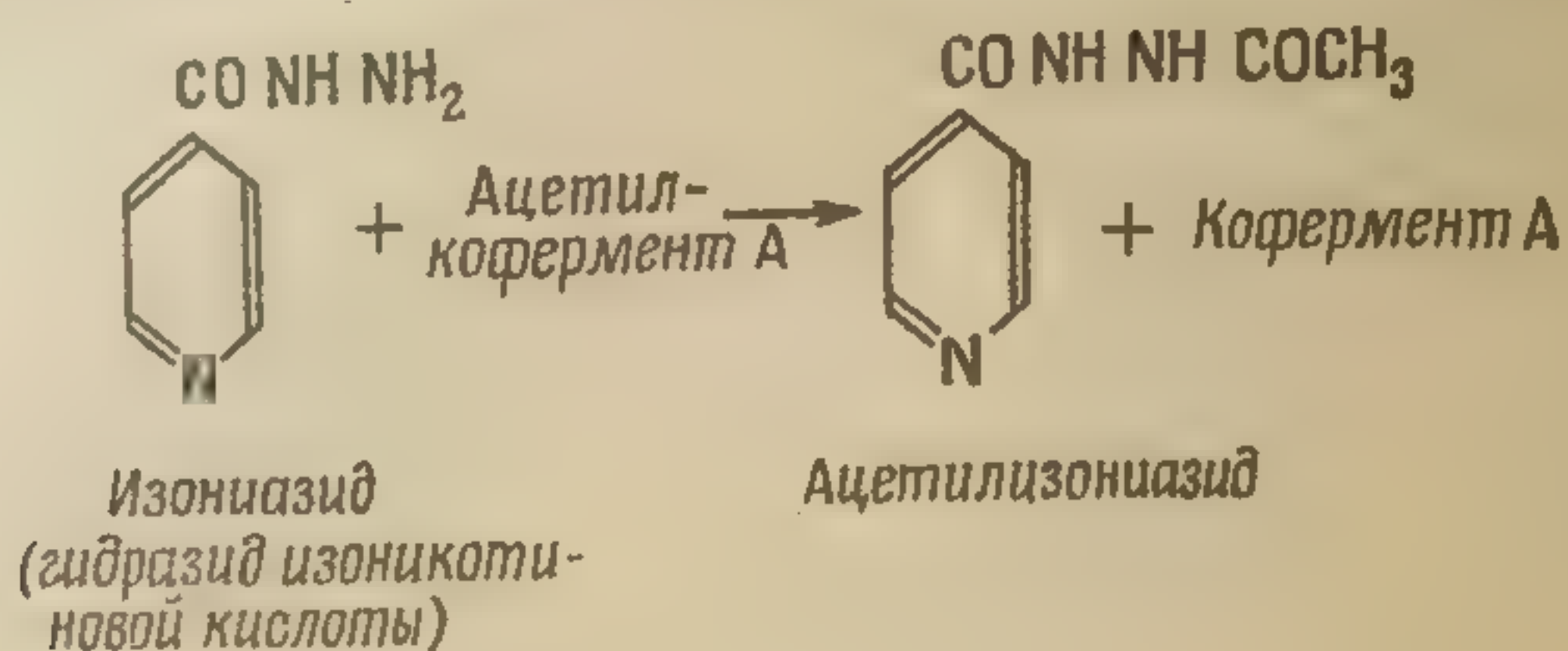
Число индивидуумов



Ф и г. 74. Распределение уровней содержания изониазида в плазме в группе из 220 индивидиуумов через 6 ч после приема внутрь изониазида [160]. Доза изониазида на прием составляла 40 мг/кг «метаболически активной массы».

Вскоре после того, как изониазид стали применять при лечении туберкулеза, было обнаружено, что отдельные индивидиуумы сильно различаются между собой по скорости инактивации изониазида путем ацетилирования; при этом у каждого данного индивидиума характер метаболизма этого вещества, по-видимому, весьма устойчив [39, 278]. Удалось показать, что по скорости инактивации изониазида всех людей можно разделить на две более или менее четко различающиеся группы. Так, например, если ввести стандартную дозу изониазида какой-либо группе людей, взятых наугад, и через несколько часов определить у них содержание изониазида в крови, то распределение полученных величин будет четко бимодальным (фиг. 74). У так называемых «быстрых» инактиваторов уровень изониазида в крови уже через несколько часов после приема препарата относительно низок, а у «медленных» инактиваторов он относительно высок. У «быстрых» инактиваторов значительно бóльшая доля этого вещества выделяется с мочой в ацетилированной форме, тогда как у «медленных» инактиваторов оно выделяется главным образом в свободной, неацетилированной форме.

Как показывают данные обследования семей, эти различия детерминированы генетически, и полученные результаты можно интерпретировать исходя из допущения, что имеются два широко распространенных аллеля, причем «медленные» инактиваторы гомозиготны по одному аллелю, а «быстрые» инактиваторы являются



Ф и г. 75. Ацетилирование изониазида.

гетерозиготами или гомозиготами по другому аллелю [159, 278]. Вероятно, у гомозиготных «быстрых» инактиваторов скорость инактивации препарата протекает несколько быстрее, чем у гетерозигот.

Ацетилирование изониазида катализирует ацетилтрансфераза. Этот фермент присутствует в печени. Он осуществляет перенос ацетильной группы от ацетилкофермента А на изониазид (фиг. 75). Исследование ацетилтрансферазной активности препаратов ткани печени, взятых путем биопсии, показало, что у «быстрых» инактиваторов уровень этого фермента в среднем намного выше, чем у «медленных» инактиваторов [161]. Такие же результаты были получены при анализе препаратов печени, взятых при аутопсии [303]. Неполностью очищенные препараты ферментов, полученные от «быстрых» и «медленных» инактиваторов, оказались вполне сходными между собой по целому ряду свойств, таких, например, как константы Михаэлиса и субстратная специфичность [303]. Следовательно, эти две группы различаются по количеству ферментного белка в клетках печени, а не по удельной активности фермента.

Было показано, что этот фермент ацетирует также некоторые другие лекарственные вещества, например сульфаметазин и гидралазин [161]. В то же время такие соединения, как сульфаниламид [161] или *n*-аминосалициловая кислота [303], по-видимому, ацетируются в организме под действием других ферментов. Эти данные, полученные *in vitro*, коррелируют с наблюдениями *in vivo*. У индивидуумов, получавших сульфаметазин, отмечаются резкие различия в относительном содержании свободной и ацетилированной форм этого лекарственного вещества в моче в соответствии с тем, являются они «медленными» или «быстрыми» инактиваторами изониазида [161]; в то же время у индивидуумов, получавших сульфаниламид [497] или *n*-аминосалициловую кислоту [303], таких различий обнаружить не удается.

Существование таких резких индивидуальных различий в инактивации изониазида, по-видимому, совсем или почти совсем не сказывается на терапевтическом эффекте этого лекарственного препарата при туберкулезе. При анализе результатов лечения изониазидом больших групп больных туберкулезом заметных раз-

личий в результатах лечения между «быстрыми» и «медленными» инактиваторами обычно не обнаруживалось [156]. Если такие различия и существуют, то они, вероятно, слишком малы. Однако у «медленных» инактиваторов изониазида, по-видимому, несколько чаще, чем у «быстрых» инактиваторов, развиваются периферические невропатии — одно из главных осложнений продолжительного лечения изониазидом. По-видимому, это обусловлено токсическим побочным эффектом препарата [139, 157]. Однако развитие периферических невритов и качестве осложнения лечения изониазидом теперь редко встречается, поскольку их можно предотвратить одновременным назначением пиридоксина.

Различия между «быстрыми» и «медленными» инактиваторами в отношении токсических и терапевтических эффектов других лекарственных веществ, ацетилируемых этим же ферментом, пока еще недостаточно изучены. Однако в одном случае, а именно при применении фенелзина (β -фенилэтилгидразид) для терапии депрессивных состояний, было отмечено, что тяжелые побочные эффекты, вызываемые этим препаратом, несколько чаще проявляются у «медленных» инактиваторов изониазида, чем у «быстрых» инактиваторов, хотя терапевтический эффект, по-видимому, в обеих группах одинаков [158].

Небезынтересно, что соотношение «быстрых» и «медленных» инактиваторов изониазида в разных популяциях колеблется в широких пределах. Среди европейцев и негров около половины населения относятся к «медленным» инактиваторам изониазида [159], тогда как среди японцев [611] «медленных» инактиваторов значительно меньше — около 10%. Таким образом, среди европейцев и негров аллель, определяющий недостаточность этого фермента, должен, по-видимому, встречаться приблизительно вдвое чаще (частота аллеля около 0,7), чем аллель, обуславливающий относительно высокую ферментативную активность (частота аллеля около 0,3). Эта ситуация, конечно, резко противоположна той, которая характерна для генов, вызывающих ферментативную недостаточность при врожденных нарушениях обмена классических типов; эти гены, как правило, встречаются весьма редко.

ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА КРОВИ

1. ГРУППЫ КРОВИ АВО

Впервые наследуемые антигенные различия у человека были открыты Ландштейнером в начале нынешнего столетия. Он показал, что если смешивать суспензии эритроцитов различных людей с сывороткой других людей, то наблюдаемая реакция может быть различной. В одних случаях происходит четкая агглютинация, или склеивание эритроцитов; в других случаях эритроциты остаются неизмененными. Агглютинация имеет место в результате связывания определенных антигенных веществ, расположенных на поверхности эритроцитов, со специфическими антителами (иммуноглобулинами), находящимися в сыворотке. Применяя перекрестные пробы на агглютинацию с эритроцитами и сыворотками здоровых людей, удалось установить, что всех людей можно разделить на четыре четко различающиеся группы исходя из представления о существовании двух антигенов (А и В). Некоторые люди (группа О) не содержат ни одного из этих антигенов, у других присутствует только один из них (группа А или группа В), а у остальных содержатся оба антигена (группа АВ). Соответствующие антитела, содержащиеся в сыворотке, обозначают анти-А и анти-В; их распределение в сыворотках представителей названных четырех групп приведено в табл. 23.

ТАБЛИЦА 23
Группы крови АВО

Группа крови	Антигенная специфичность эритроцитов	Антитела в сыворотке
О	—	Анти-А и Анти-В
А	А	Анти-В
В	В	Анти-А
АВ	А и В	—

Благодаря этим открытиям стало возможным использовать переливание крови, подбирая соответствующим образом донора и

реципиента. Среди европейцев около 47% людей принадлежит к группе О, около 42% — к группе А, около 8% — к группе В и около 3% — к группе АВ. Однако относительная частота этих четырех групп в разных популяциях не одинакова.

Уже первые исследования по распределению этих четырех групп крови в семьях и их частоте в разных популяциях показали, что они наследуются, и привели к предположению, что они определяются тремя аллельными генами: аллель А определяет групповую специфичность А, аллель В — групповую специфичность В и аллель О является неактивным. В соответствии с этим все представители группы О являются гомозиготами ОО, а представители группы АВ — гетерозиготами АВ. Однако представители группы А могут быть как гомозиготами АА, так и гетерозиготами АО, а представители группы В соответственно либо гомозиготами ВВ, либо гетерозиготами ВО. Дальнейшие исследования в основном подтвердили такую интерпретацию и в некоторых отношениях расширили ее. Так, было показано, что, применяя соответствующие антисыворотки, в группе А можно выделить две относительно близкие подгруппы, А₁ и А₂, каждая из которых, очевидно, определяется отдельным аллелем; было найдено также много редких аллелей, определяющих незначительные отличия в групповой специфичности (детальный обзор этого вопроса см. в работе [508]).

Вещества, обладающие антигенной специфичностью А и В, прочно связаны с эритроцитами и не могут быть извлечены из их стромы ни водой, ни солевыми растворами. Однако активные препараты можно получить при помощи экстракции этиловым спиртом. Вещества с такими же свойствами и типом специфичности были найдены и в других тканях организма [241], в частности в мембранах клеток эндотелия [614, 615]. Эти вещества обычно называют «спирторастворимыми» группоспецифическими веществами в отличие от другого класса веществ, обладающих такой же антигенной специфичностью и, очевидно, определяемых теми же аллелями (А, В и т. д.), но являющихся водорастворимыми. Так называемые «водорастворимые» группоспецифические вещества встречаются в больших количествах в различных слизистых секретах, в особенности в слюне и в слизи желудочно-кишечного тракта. Их обычно выявляют и определяют методом адсорбции (истощения сывороток). Этот метод состоит в следующем. При смешивании с соответствующей антисывороткой эти антигены избирательно адсорбируют группоспецифические антитела, так что после добавления эритроцитов определенной группы реакция агглютинации не происходит.

Спирторастворимые группоспецифические вещества, экстрагированные из эритроцитов, по-видимому, представляют собой гликолипиды [219, 350]. Это сложные макромолекулы, содержащие углеводный компонент, соединенный с жирными кислотами через сфингозин. Водорастворимые группоспецифические вещества пред-

ставляют собой гликопротеиды [312, 437], содержащие большое количество углеводов. Таким образом, это два совершенно различных класса макромолекул, которые, однако, обладают сходными или даже идентичными антигенными свойствами, контролируруемыми одними и теми же аллелями. Антигенная специфичность, по-видимому, определяется конформацией некоторых остатков сахаров, расположенных на концах углеводных цепей, входящих в состав этих макромолекул. Эти группировки для обоих классов макромолекул, вероятно, очень сходны или даже идентичны.

Большинство работ, посвященных выяснению химической природы антигенных свойств, было проведено на водорастворимых группоспецифических веществах. Это объясняется тем, что до недавнего времени они представляли собой единственную форму группоспецифических веществ крови, которые удавалось выделять в количествах, достаточных для изучения их химической структуры.

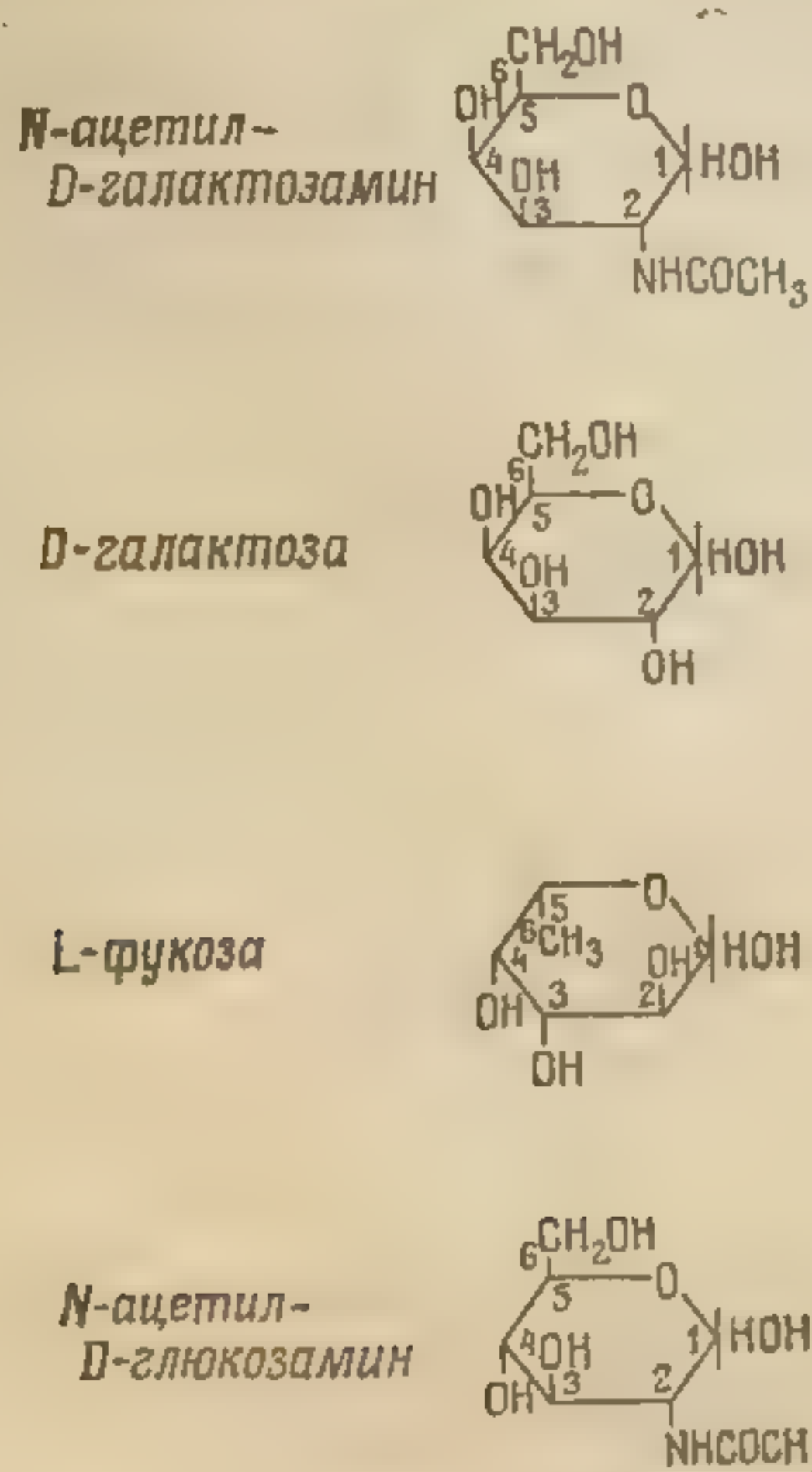
Наиболее богатым источником водорастворимых группоспецифических веществ крови служат слюна и желудочный сок. В больших количествах эти вещества содержатся также в меконии (первых испражнениях новорожденных). Однако самым богатым источником таких веществ может служить жидкость кисты яичника [438]. Жидкость накапливается в кисте в течение длительного времени, и в отдельных случаях удается получить большое количество жидкости, нередко содержащей несколько граммов активного группоспецифического материала.

Группоспецифические вещества, выделенные из секретов, были получены в очищенном состоянии. Оказалось, что это высокомолекулярные гликопротеиды. Их молекулярная масса колеблется в пределах от $3 \cdot 10^5$ до $1 \cdot 10^6$. По-видимому, в препарате группоспецифического вещества, полученном из одного и того же секрета, принадлежащего одному индивидууму, может содержаться целое семейство макромолекул, несколько различающихся между собой по размерам, а возможно и по составу, хотя они, несомненно, очень близки друг другу по своему строению. Эти вещества обычно содержат около 85% углеводов и 15% аминокислот. Их молекулярная структура еще не ясна во всех деталях, однако судя по их общим свойствам и по продуктам деградации, они построены из большого числа относительно коротких олигосахаридных цепей, ковалентно соединенных через некоторые промежутки с полипептидным остовом. Если принять, что молекулярная масса этих гликопротеидов составляет около 500 000, а их углеводные цепи состоят из 7 или 8 остатков сахара, то молекула должна содержать в среднем около 300 углеводных цепей, каждая из которых заканчивается нередуцирующей группой [442].

В состав углеводной части макромолекулы входит гексоза, D-галактоза, метилпентоза, L-фукоза и два аминсахара, а именно N-ацетил-D-глюкозамин и N-ацетил-D-галактозамин (фиг. 76). В их состав также часто входит остаток сахара, содержащий

Фиг. 76. Сахара, содержащиеся

в составе полипептидной цепи. В состав полипептидной цепи входят аминокислоты, характерные для пятнадцати, а именно: аланина, приходящиеся ок [505]. Другая характерная особенность серусодержащих макромолекул, и роль которых заключается в поддержании углеводных цепей, к терминальным антигенам относятся, последние представляют на фетт-специфического вещества лактозамина, тогда как накапливается остатком N-ацетилгалактозамина. Следующий тип остатков (1) или β-1,4-связи также как A-, так и B-группоспецифических N-специфических



Ф и г. 76. Сахара, содержащиеся в группоспецифических веществах крови.

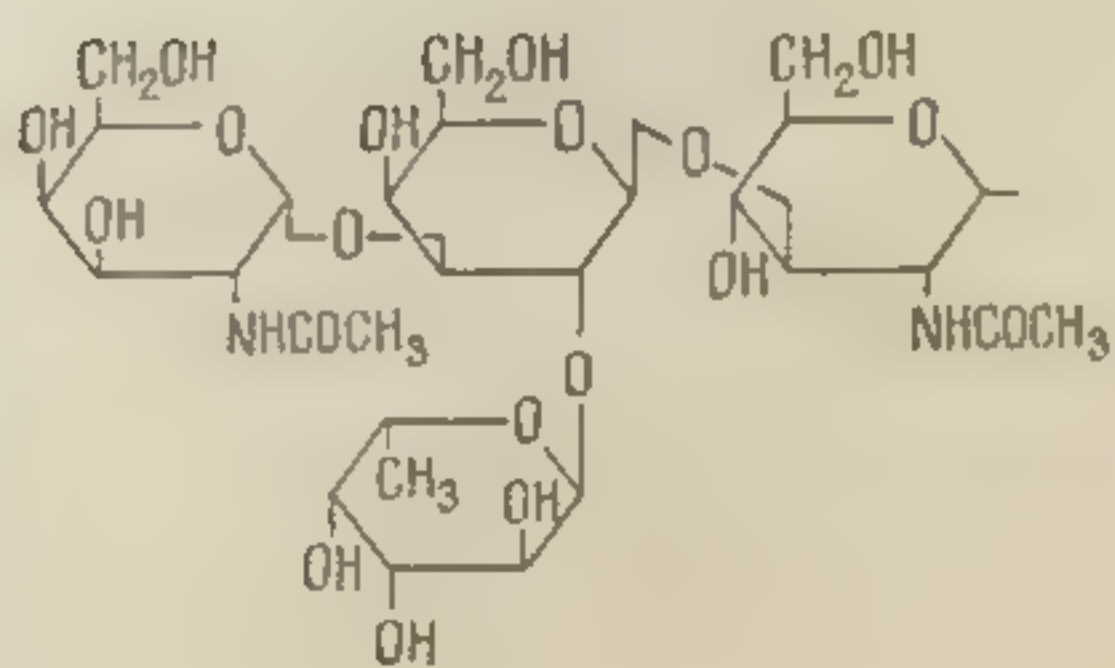
9 атомов углерода, и *N*-ацетилнейраминовая (сиаловая) кислота. В состав полипептидной части макромолекулы входит 15 разных аминокислот; характерно то, что на долю четырех аминокислот из этих пятнадцати, а именно на долю треонина, серина, пролина и аланина, приходится около $\frac{2}{3}$ всех аминокислотных остатков [505]. Другая характерная черта полипептидного компонента — отсутствие серусодержащих аминокислот. Полная серологическая реактивность возможна только при сохранении целостности всей макромолекулы, и роль полипептидного остова, по-видимому, заключается в поддержании правильной расстановки и ориентации углеводных цепей, которые несут в своих терминальных группах детерминанты антигенной специфичности.

Терминальные последовательности сахаров, которые, как теперь полагают, определяют групповую специфичность А и В, представлены на фиг. 77 [662]. Существенно, что цепь группоспецифического вещества А заканчивается остатком *N*-ацетилгалактозамина, тогда как цепь группоспецифического вещества В заканчивается остатком галактозы. Во всем остальном обе цепи одинаковы. Следует лишь отметить, что между галактозой и остатком *N*-ацетилгалактозамина может иметься β -1,3-связь (цепи типа 1) или β -1,4-связь (цепи типа 2), и такие цепи могут обладать как А-, так и В-специфичностью. На фиг. 77 приведены также олигосахаридные цепи, которые встречаются во многих группоспецифических веществах, придавая им так называемую Н-специфичность. Следует отметить, что цепи с Н-специфично-

Цепи типа 1

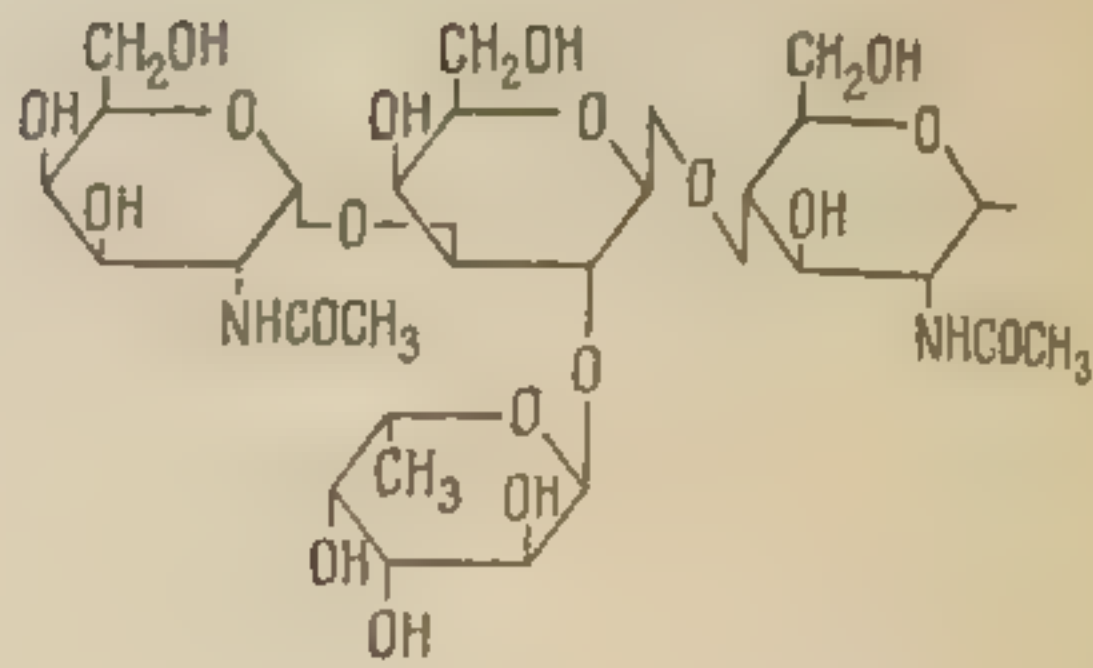
Цепи типа 2

А-специфичность



α -Гал-NAc-(1 \rightarrow 3)- β -Гал-(1 \rightarrow 3)-Г-NAc-

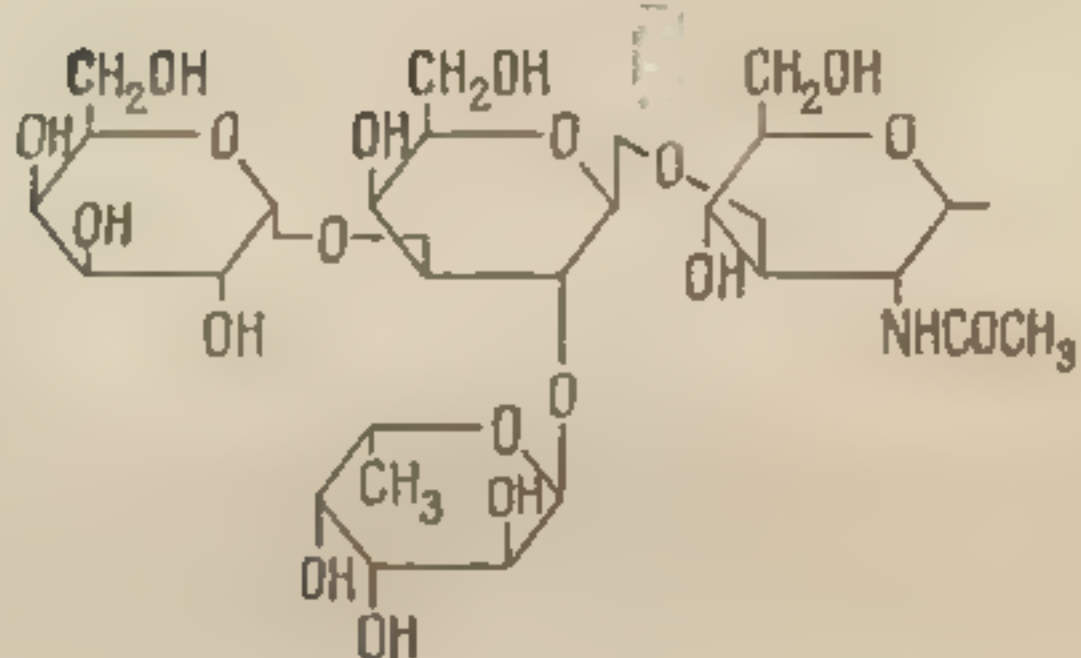
\uparrow 1,2
 α -Фук



α -Гал-NAc-(1 \rightarrow 3)- β -Гал-(1 \rightarrow 4)-Г-NAc-

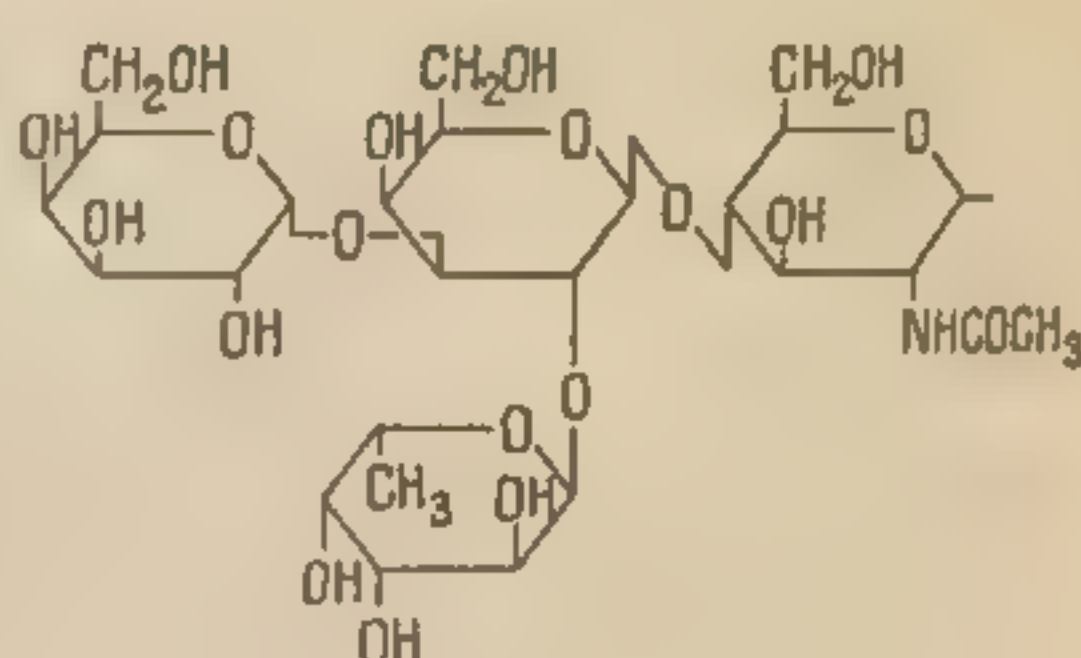
\uparrow 1,2
 α -Фук

В-специфичность



α -Гал-(1 \rightarrow 3)- β -Гал-(1 \rightarrow 3)-Г-NAc-

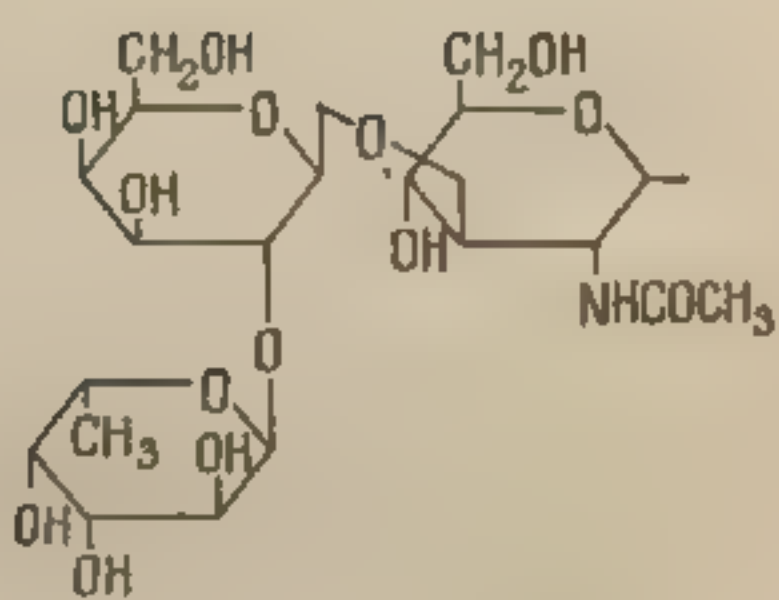
\uparrow 1,2
 α -Фук



α -Гал-(1 \rightarrow 3)- β -Гал-(1 \rightarrow 4)-Г-NAc-

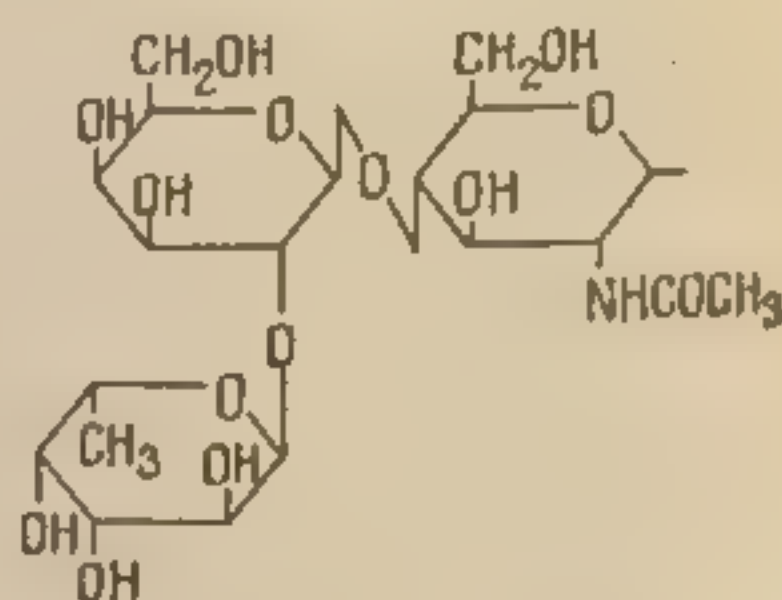
\uparrow 1,2
 α -Фук

Н-специфичность



β -Гал-(1 \rightarrow 3)-Г-NAc-

\uparrow 1,2
 α -Фук



β -Гал-(1 \rightarrow 4)-Г-NAc-

\uparrow 1,2
 α -Фук

Ф и г. 77. Терминальные последовательности сахаров в полисахаридных цепях гликопротеидов, обуславливающие специфичность А, В и Н (см. текст). Обозначения: Гал — D-галактопиранозил; Фук — L-фукопиранозил; Г-NAc — N-ацетил-D-глюкозаминопиранозил; Гал-NAc — N-ацетил-D-галактозаминопиранозил.

стью отличаются от цепей А и В лишь тем, что в них отсутствуют терминальные остатки N-ацетилгалактозамина или галактозы.

Н-специфичность открыли после того, как было обнаружено, что сыворотка, полученная от крупного рогатого скота, в некоторых случаях вызывает избирательную агглютинацию эритроцитов людей с группой крови О [547]. Было показано также, что у людей, относящихся к группе О, в слюне и в других секретах имеются вещества, способные нейтрализовать агглютинирующее действие сыворотки скота на эритроциты группы О. Впоследствии из различных источников (сыворотка коз и кур, иммунизированных *Shigella shiga*, сыворотка угря *Anguilla anguilla*, сыворотка кроликов, иммунизированных экстрактом из жидкости кисты яичника, удаленной у женщины с группой крови О, а также экстракты, полученные из семян различных растений — так называемые лектины) были получены другие антитела со сходными свойствами. В редких случаях антитела с такой же специфичностью обнаруживались и в сыворотках человека.

Первоначально предполагали, что эти антитела реагируют со специфическим антигеном, который контролируется геном О, определяющим группу крови О. Это предположение, однако, пришлось отбросить после того как выяснилось, что вещества с Н-специфичностью образуются у индивидуумов, которые не могут быть носителями гена О [439]. В некоторых случаях слюна людей с группой крови АВ также обладала Н-специфичностью. На основании этих наблюдений было высказано предположение, что существует так называемое вещество Н, которое служит предшественником группоспецифических веществ А и В. Гены А и В, а скорее всего непосредственные ферментные продукты этих генов, взаимодействуя с таким предшественником, вызывают появление специфичности типа А или В, причем Н-активность полностью или частично исчезает. Исходя из этого, следует ожидать, что Н-активность должна быть более всего выражена у людей с группой крови О [666].

Последовательности остатков в олигосахаридах (фиг. 77), связанные со специфичностью А, В и Н были установлены с помощью нескольких экспериментальных подходов. Первые указания на природу этих последовательностей были получены в результате исследований, основанных на классической работе Ландштейнера, который показал, что специфическая реакция антиген — антитело может конкурентно подавляться низкомолекулярными веществами, очень близкими по своей структуре детерминантной группе антигена или идентичными ей. Так, например, было показано, что в определенных условиях реакция Н — анти-Н подавляется L-фукозой, но не другими сахарами, содержащимися в группоспецифических гликопротеидах. Подобно этому реакция А — анти-А может специфически подавляться N-ацетилгалактозамином, а реакция В — анти-В подавляться D-галактозой. Эти дан-

ные [313, 440, 664] говорят о том, что при большом сходстве общего состава группоспецифических веществ А, В и Н сахара, определяющие их иммунологическую специфичность, различны. Этот подход получил дальнейшее развитие в результате применения в качестве ингибиторов дисахаридов и трисахаридов известного состава, полученных из частичных гидролизатов различных веществ, ■ также из других источников.

Другой экспериментальный подход стал возможен после того, как было обнаружено, что многие микроорганизмы содержат ферменты, способные отщеплять терминальные остатки сахара от углеводных цепей группоспецифических веществ крови, что сопровождается изменением антигенной специфичности последних [223, 293, 294, 661, 670]. Так, например, были найдены ферменты, преимущественно отщепляющие свободную D-галактозу от очищенных веществ, реагирующих со специфичностью В. При этом В-реактивность утрачивается и появляется или усиливается Н-реактивность, которая отсутствовала или была едва заметной в исходных препаратах. Другие ферменты отщепляют N-ацетилгалактозамин от гликопротеидов с А-специфичностью, что сопровождается утратой А-реактивности. При этом опять-таки отмечается возникновение или усиление Н-реактивности. Наконец, известны ферменты, отщепляющие L-фукозу от Н-специфических веществ с соответствующей утратой Н-реактивности. В дальнейшем было показано [665], что специфическое действие этих ферментов, которое заключается в устранении группоспецифичности определенного типа, может избирательно сниматься при добавлении в систему соответствующих сахаров.

В опытах такого рода была установлена природа сахаров, определяющих специфичность А, В и Н. Однако детальное выяснение химической структуры этих детерминантов стало возможным лишь после того, как удалось выделить и охарактеризовать олигосахариды с короткой цепью, полученные при частичном кислотном и щелочном гидролизе очищенных гликопротеидов, обладающих различной групповой специфичностью [113, 481, 519, 549, 550]. Выяснение структуры этих фрагментов, изучение их поведения в системах с ингибиторами, а также с описанными выше ферментами позволило в конце концов установить последовательно, представленные на фиг. 77.

Успехи в установлении природы групповой специфичности активных гликолипидов из эритроцитов значительно скромнее. Удалось установить, что углеводная часть молекул этих гликолипидов содержит те же сахара, что обнаружены ■ ■ группоспецифических гликопротеидах. При помощи серологических проб и тестов на ингибирование ферментов [663] было доказано, что в них присутствуют в качестве детерминантных групп N-ацетилгалактозамин и D-галактоза, определяющие соответственно специфичность А и В. Таким образом, возможно, что как для водо-

растворимых гликопротеидов, встречающихся в слизистых секретах, так и для спирторастворимых гликолипидов, находящихся в мембранах эритроцитов, групповая специфичность обусловлена одними и теми же или весьма сходными олигосахаридными группировками.

Все эти данные указывают на то, что аллели A и B в генном локусе ABO определяют образование специфичных гликозил-переносящих ферментов, катализирующих присоединение на конечных стадиях синтеза группоспецифических макромолекул либо остатка N -ацетилгалактозамина, либо остатка D -галактозы к концам углеводных цепей. Можно предполагать, что независимо от того, какой из аллелей присутствует, синтез макромолекул происходит в общем одинаково вплоть до стадии образования вещества, содержащего многочисленные углеводные цепи с H -специфичностью (как показано на фиг. 77). Далее у носителей аллеля A , обладающих соответствующей трансферазой, к концевой группе олигосахаридной цепи присоединяется остаток N -ацетилгалактозамина. Аналогичным образом у носителей аллеля B , у которых имеется специфичная D -галактозилтрансфераза, к концевой группе олигосахаридной цепи присоединяется галактоза. У гомозигот по аллелю O , по-видимому, соответствующий фермент отсутствует, и к их углеводной цепи никакого дополнительного остатка не присоединяется, так что группировка, определяющая их H -специфичность, может быть выявлена серологически. Поэтому H -реактивность сильнее всего выражена у людей с группой крови O .

Справедливость этой гипотезы о действии аллелей A , B и O подтверждается также тем фактом, что одна и та же молекула гликопротеида может проявлять различную групповую специфичность. Так, например, было показано, что если получить очищенный группоспецифический препарат от индивидуумов с группой крови AB , то при осаждении его антисывороткой против A обе активности (A и B) оказываются в осадке [441]. При синтезе макромолекул гликопротеида у индивидуумов с группой крови AB , как полагают, при завершении олигосахаридных цепей имеет место конкуренция между ферментами. В результате, поскольку в одной макромолекуле имеется много цепей, некоторые из них достраиваются N -ацетилгалактозамином (A -реактивная структура), а другие — D -галактозой (B -реактивная структура). Далее оказалось, что гликопротеидные макромолекулы, обладающие активностью A и B , могут проявлять также и H -активность [668]. Очевидно, в таких случаях не ко всем цепям присоединяются детерминантные группы, определяющие реактивность A или B (ведь H -реактивность определяют цепи, не содержащие дополнительного остатка сахара).

Недавно были получены прямые указания на существование специфичных гликозилтрансфераз, которые можно рассматривать

как продукты аллелей *A* и *B* в локусе *ABO*. Так, у индивидуумов с группой крови *B* и *AB* в подчелюстной железе и в слизи из желудка обнаружена α -D-галактозилтрансфераза, причем оказалось, что эта трансфераза отсутствует у индивидуумов с группой крови *A* или *O*. Этот фермент катализирует перенос D-галактозы от уридиндифосфатгалактозы на олигосахариды, содержащие в качестве конечного нередуцирующего остатка α -L-фукозил-(1 \rightarrow 2)-галактозу, определяющую H-активность [509, 705]. Подобно этому в подчелюстных железах людей с группой крови *A* или *AB*, но не *B* и *O*, была найдена α -N-ацетил-D-галактозаминилтрансфераза, которая переносит N-ацетил-D-галактозамин с уридиндифосфат-N-ацетил-D-галактозамина на тот же самый олигосахаридный акцептор [243]. Далее, N-ацетил-D-галактозаминилтрансфераза была найдена в грудном молоке у женщин с группой крови *A* и *AB*, но не *B* или *O* [345]; в то же время D-галактозилтрансфераза была найдена в грудном молоке у женщин с группой крови *B* или *AB*, но не *A* или *O* [346].

О природе специфических гликозилтрансфераз, определяемых аллелями *A* и *B*, пока очень мало что известно. Можно ожидать, что эти два ферментных белка очень близки по своему строению и, возможно, различаются только по одному аминокислотному остатку, однако этого, вероятно, достаточно для того, чтобы обусловить четкие различия в субстратной специфичности. Фермент *A*, вероятно, специфичен для нуклеозиддифосфата, соединенного с остатком N-ацетил-D-галактозамина, тогда как фермент *B* специфичен в отношении субстрата, содержащего остаток D-галактозы. Существенно отметить, что различие в структуре N-ацетил-D-галактозамина и D-галактозы в общем весьма незначительно; оно состоит в том, что в первом соединении при C-2 находится N-ацетиламиногруппа, а во втором в этом же положении присутствует гидроксильная группа. Однако теоретически даже такое относительно слабое различие в строении ферментного белка вполне может обусловить весьма тонкое различие в субстратной специфичности за счет изменения конформации активного центра. «Отсутствие активности» в случае аллеля *O* может объясняться тем, что он контролирует образование молекул ферментного белка с несколько измененной структурой, вследствие чего он лишен гликозилтрансферазной активности. Однако не исключено, что при этом синтез ферментного белка полностью подавлен или что синтезируется чрезвычайно нестойкий ферментный белок с гораздо меньшим периодом полураспада по сравнению с ферментами *A* и *B*.

II. ЛОКУС *SECRETOR* и ЛОКУС «H»

У большинства людей в слюне и других слизистых секретах содержатся водорастворимые гликопротеиды, обладающие анти-

генной специфичностью А, В или Н соответственно групповой принадлежности эритроцитов.

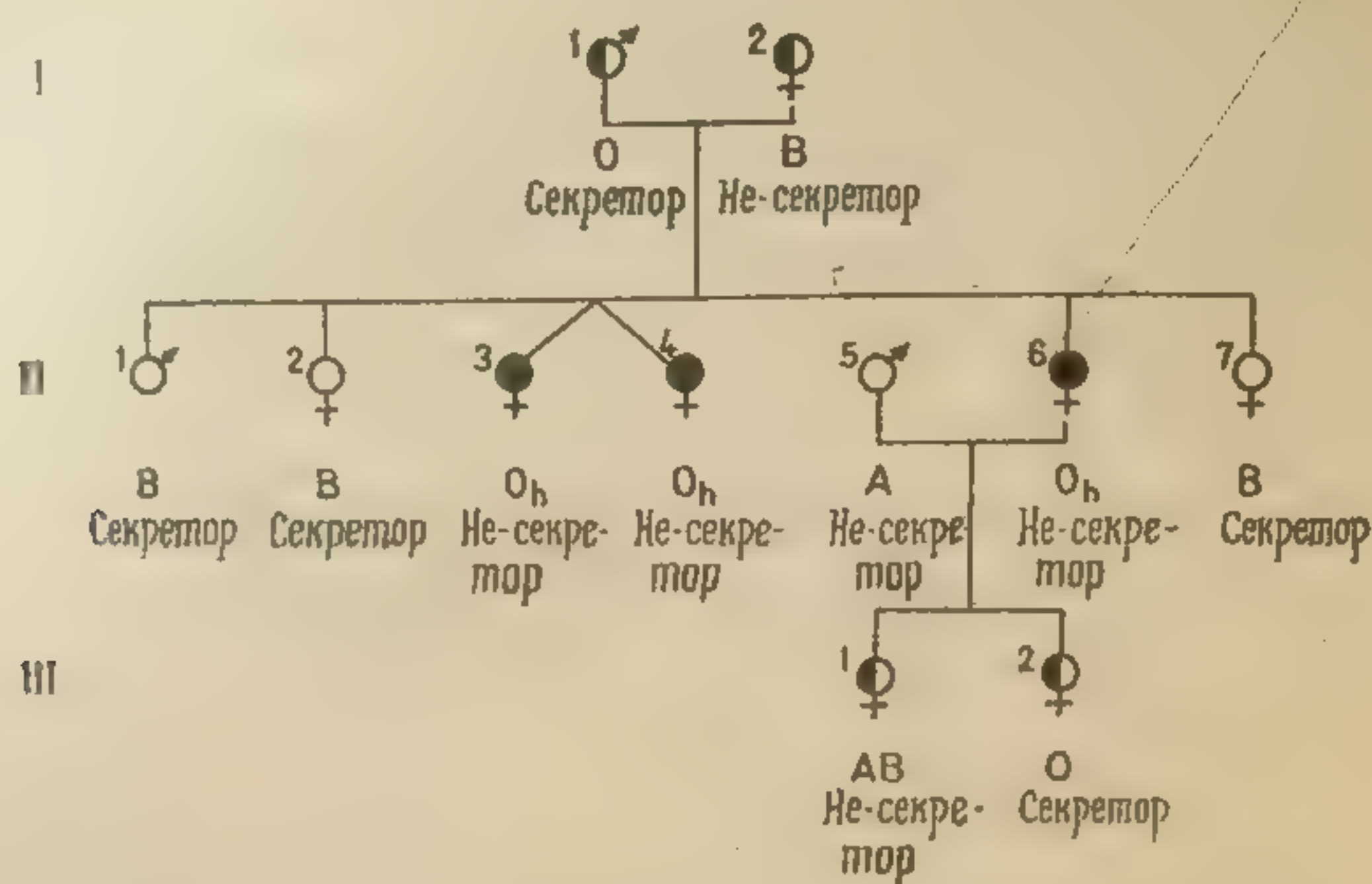
Однако встречаются индивидуумы, у которых гликопротеиды, содержащиеся в этих секретах, лишены характерной специфичности А, В или Н. Людей можно подразделить по этому признаку на две четко разграниченные группы [376, 506]. У представителей одной из них, так называемых «секреторов», слюна и другие секреты обладают специфичностью А, В или Н, тогда как у представителей второй группы («не-секреторы») эта специфичность отсутствует. Около 80% европейцев являются «секреторами» и около 20% — «не-секреторами».

Секреторный статус данного индивидуума постоянен и детерминирован генетически. Данные обследования семей показали, что диморфизм в этом отношении определяется парой аллельных генов, обозначаемых *Se* и *se* [548]. Носители аллеля *Se* являются «секреторами» независимо от того, гомозиготны они (т. е. имеют «секреторами» независимо от того, гомозиготны они (т. е. имеют ли они генотип *SeSe*) или гетерозиготны (генотип *Sese*). Гомозиготы по другому аллелю (*sese*) являются «не-секреторами». Эти аллели находятся в особом локусе, отличном от локуса *ABO*, причем эти два локуса не сцеплены между собой. Они либо расположены на значительном расстоянии друг от друга в одной и той же хромосоме, либо находятся в разных хромосомах.

Аллель *Se*, по-видимому, необходим для образования Н-специфической группировки в углеводных цепях водорастворимых гликопротеидов. В отсутствие этого аллеля (у гомозигот по гену *se*) Н-специфическая группировка не образуется. Поскольку в отсутствие этой группы присоединения терминальных групп, определяющих А- или В-специфичность, к углеводным цепям не происходит, эти виды специфичности у «не-секреторов» также отсутствуют, даже в том случае, если у данного индивидуума имеются соответствующие аллели А или В.

Однако аллели так называемого локуса *secretor* влияют только на синтез водорастворимых группоспецифических веществ. Они, по-видимому, никак не сказываются на синтезе спирторастворимых веществ, поскольку у «не-секреторов» групповая специфичность А, В и Н эритроцитов проявляется обычным образом. Кроме того, у «не-секреторов», очевидно, блокированы лишь самые последние стадии образования характерных углеводных цепей гликопротеидов. Это следует из того, что, как мы увидим далее, у «не-секреторов» и «секреторов» гликопротеиды, содержащиеся в секретах, качественно очень сходны, и, по-видимому, в их молекулах отсутствует лишь концевой остаток L-фукозы, характерный для цепей с Н-специфичностью, а также терминальные остатки N-ацетилгалактозамина или D-галактозы, определяющие соответственно специфичность А или В.

С образованием Н-специфической группировки, а следовательно, и с возникновением А- и В-специфичности тесно связан



Ф и г. 78. Родословная, иллюстрирующая распределение необычного «Бомбейского» фенотипа (группа крови O_h) и объяснение его на основе расщепления по редкому аллелю *h* в локусе *H* [377].

Индивидуумы I₁ и I₂ — двоюродные брат и сестра. Для каждого индивидуума указана принадлежность к той или иной группе крови системы ABO, выявляемая по реакции агглютинации с анти-А и анти-В. Обозначен также секреторный статус, установленный стандартными методами исследования слюны. У индивидуумов с «Бомбейским» фенотипом (O_h) антигены А, В и Н в эритроцитах и в секретах отсутствуют, а их сыворотки содержат анти-А, анти-В и анти-Н. ●—*hh*; ○—*Hh*; ○—*HH* или *Hh*.

еще один генный локус. Он был выявлен в связи с обнаружением у нескольких индивидуумов совершенно необычной групповой специфичности [55]. Все эти индивидуумы оказались уроженцами Бомбея, отсюда и название «Бомбейский» фенотип; этот фенотип часто обозначает также O_h. У индивидуумов с таким фенотипом эритроциты не агглютинируются антисыворотками против А, В и Н, а в их сыворотке содержатся в высоком титре не только анти-А и анти-В, но также анти-Н. В то же время в слюне этих людей ни А-, ни В-, ни Н-специфичность не обнаруживается. Генетическую основу этого необычного явления удалось выяснить в результате детального изучения семьи, в которой эта редкая фенотипическая особенность отмечалась в трех случаях [377]. Родословная этой семьи представлена на фиг. 78. Необычный фенотип O_h отмечался у индивидуумов II₃, II₄ и II₆. Существенно, что у одной из дочерей II₆ отмечалась В-реактивность эритроцитов, хотя у их матери II₆ и у отца (группа крови А) этот антиген, по видимому, отсутствовал. Кроме того, у второй дочери II₆ (группа крови О) слюна обладала Н-активностью, т. е. эта дочь, как можно предполагать, была «секретором». В то же время отец (II₅) являлся «не-секретором», а у матери (II₆) слюна не обладала ни В-, ни А-, ни Н-активностью, и, стало быть, мать также относилась к «не-секреторам». Таким образом, II₆, по-видимому, была носителем В-аллеля ABO-локуса, хотя его активность и не

проявлялась. С другой стороны, в секреторном локусе у нее присутствовал аллель *Se*, хотя в ее секретах не обнаруживалось ни В-, ни Н-активности. Наиболее простое объяснение всех этих фактов состоит в том, что II_6 , так же, как II_3 и II_4 , для которых характерна та же фенотипическая особенность, являются гомозиготами по очень редкому аллелю еще одного генного локуса и что при наличии этого аллеля специфичность В ■ Н (а возможно также А) как в эритроцитах, так и в секретах не возникает. И еще одно свидетельство в пользу того, что речь в данном случае идет о гомозиготности по редкому аллелю: родители индивидуумов, обладавших описанной особенностью, были двоюродными братом и сестрой.

Впоследствии были описаны другие подобные же случаи, и они также ■ общем подтверждают то объяснение, что речь должна идти о редком аллеле ■ генном локусе, отличном как от локуса *ABO*, так и от локуса *secretor*. Обычный аллель этого нового локуса принято обозначать *H*. Этот аллель присутствует у подавляющего большинства людей и, очевидно, необходим для возникновения Н-специфической группировки, ■ следовательно, ■ специфических группировок А и В как в гликолипидных группоспецифических веществах эритроцитов, так и в гликопротеидных веществах секретов. Редко встречающийся аллель *h* не активен в этом отношении, вследствие чего у гомозигот *hh* А-, В- или Н-специфичность ни в эритроцитах, ни ■ секретах не проявляется даже в том случае, если эти гомозиготы являются носителями соответствующих аллелей *ABO*, а также аллеля *Se*. У гетерозигот *Hh* выражение *ABO* аллелей или аллеля *Se* не изменено.

Таким образом, для проявления Н-специфичности гликопротеидов в секретах, по-видимому, необходимы как аллель *H*, так ■ аллель *Se*. Однако для возникновения Н-специфичности гликолипидов в эритроцитах существен, по-видимому, только аллель *H*, тогда как аллель *Se*, видимо, с этим признаком не связан.

В процессе биосинтеза группоспецифических веществ крови возникновение Н-специфичности, по-видимому, зависит от присоединения L-фукозы (при помощи α -(1→2)-связи) к терминальному остатку галактозы олигосахаридной цепи (см. фиг. 77). Без этого невозможно было бы последующее действие гликозилтрансфераз, детерминируемых аллелями А ■ В локуса *ABO*. Можно полагать, что присоединение L-фукозы катализируется специфичной L-фукозилтрансферазой, переносящей остаток L-фукозы от соответствующего субстрата-донора на концевой остаток галактозы олигосахаридной цепи. Было высказано предположение [662], что эта фукозилтрансфераза представляет собой специфический ферментный продукт *H*-аллеля, но не образуется *h*-аллелем. Однако для того чтобы этот фермент имелся в наличии и мог принимать участие в биосинтезе водорастворимых группоспецифических веществ ■ секретах, у индивидуума должен присутствовать

также аллель *Se*. Таким образом, «водорастворимые» вещества с *H*-специфичностью будут образовываться у индивидуумов, у которых имеются аллели *HH* или *Hh*, а также *SeSe* или *Sese*, и не будут синтезироваться у тех, у которых имеются аллели *hh* и *sese*. Поскольку локус *secretor*, по-видимому, не принимает участия в биосинтезе спирторастворимых групповых веществ крови, *H*-специфичность в эритроцитах может обнаруживаться даже у «не-секреторов», т. е. у индивидуумов с генотипом *sese*. Этот тип специфичности, а также специфичность *A* и *B*, однако, никогда не встречаются в эритроцитах индивидуумов с редким «Бомбейским» фенотипом *hh*. В связи с этим «секреторный» локус рассматривается как регулятор активности локуса *H* в процессе биосинтеза группоспецифических водорастворимых гликопротеидов секретов, но не в биосинтезе группоспецифических спирторастворимых гликолипидов.

Шен и др. [575] исследовали фукозилтрансферазы в грудном молоке у «секреторов» и «не-секреторов». В молоке «секреторов» они обнаружили фермент, который не встречается у «не-секреторов». Этот фермент катализирует перенос *L*-фукозы от ГДФ-*L*-фукозы, присоединяя ее α -(1 \rightarrow 2)-связью к β -галактозильному остатку. Таким образом, он, по-видимому, обладает как раз тем типом активности, которая теоретически необходима для образования *H*-реактивных группировок в группоспецифических веществах крови.

III. ЛОКУС LEWIS ИЛИ *LE*

Локус *Lewis* — еще один генный локус, который влияет на биосинтез и, следовательно, также на антигенную специфичность водорастворимых гликопротеидов, встречающихся в слюне и в других слизистых секретах.

Этот локус был открыт после того, как было обнаружено [449], что у некоторых индивидуумов в сыворотке содержатся антитела, которые вызывают агглютинацию эритроцитов приблизительно у 18% европейцев. Впоследствии было обнаружено, что у 90% европейцев в слюне и в других слизистых секретах [211] обнаруживается вещество, способное специфично реагировать с этими антителами. Этот антиген теперь обычно называют *Lewis^a*, или *Le^a*. Секреты или эритроциты, обладающие *Le^a*-специфичностью, обозначают *Le(a+)*, а те, которые ею не обладают, *Le(a—)*.

Присутствие или отсутствие *Le^a*-специфичности в секретах зависит от пары аллелей *Le* и *le* [99, 211]. Носители аллеля *Le*, независимо от того, являются ли они гомозиготами *LeLe* или гетерозиготами *Lele*, обладают специфичностью *Le(a+)*. Гомозиготы *lele* такой специфичностью не обладают. Данный локус, по-

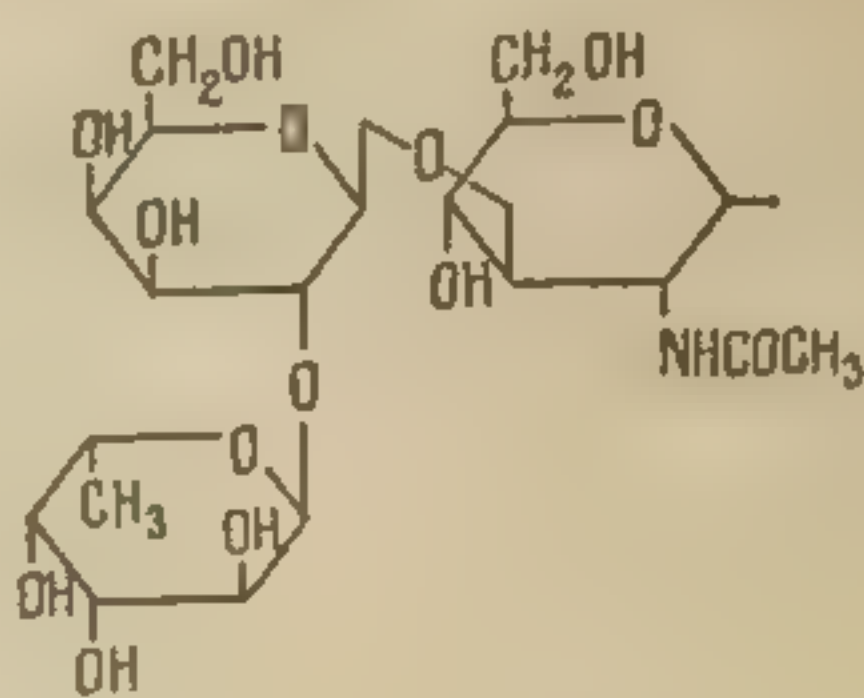
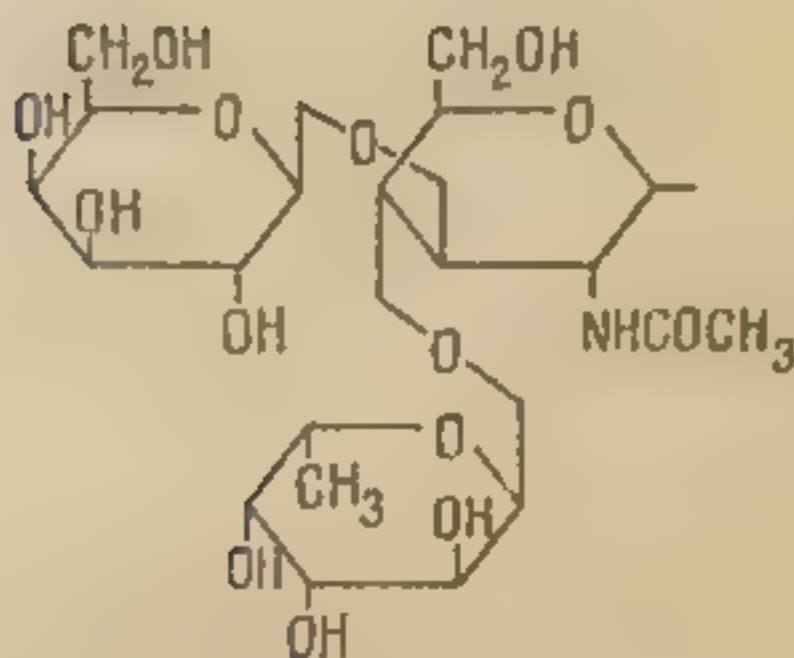
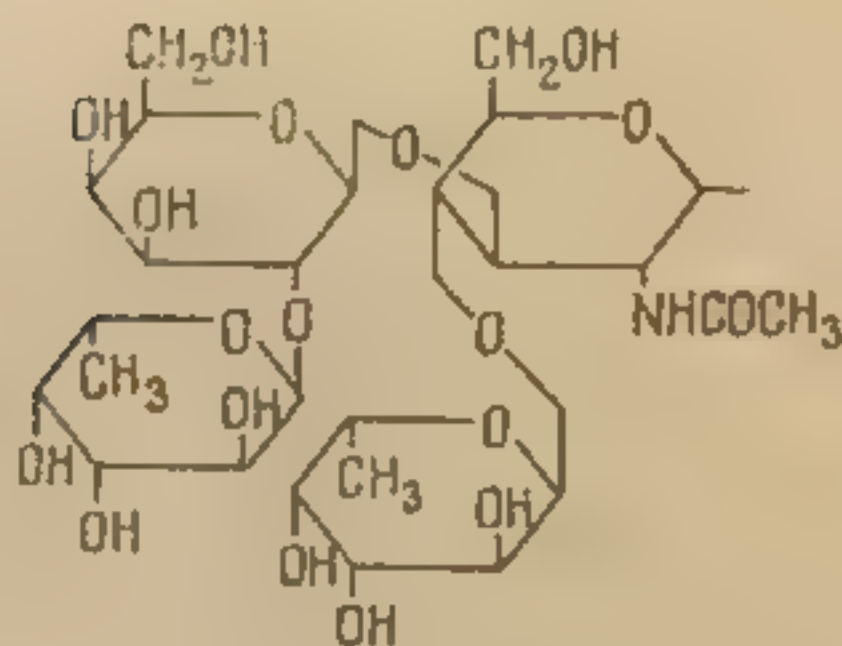
видимому, не является тесно сцепленным с другими локусами, определяющими групповую специфичность гликопротеидов слизистых секретов (например, с локусами *ABO* или *secretor*).

Однако довольно неожиданно оказалось, что степень реактивности Le^a в секретах носителей аллеля *Le* четко зависит от того, являются ли они «секреторами» или «не-секреторами». Le^a -активность в секретах значительно сильнее выражена у «не-секреторов», чем у «секреторов». Оказалось также, что все те, у кого Le^a -активность обнаруживается в эритроцитах, являются «не-секреторами» [210, 211]. Таким образом, между проявлениями аллелей секреторного локуса *secretor*, с одной стороны, и локуса *Lewis* — с другой существует взаимосвязь.

Характерная последовательность сахаров, сообщающая молекулам гликопротеидов специфичность Le^a [520, 667, 669], представлена на фиг. 79. Центральная роль в определении специфичности этого типа принадлежит L-фукозильному остатку, который присоединен α -1,4-связью к предпоследнему N-ацетилглюкозаминильному остатку цепи. Главный остов углеводной цепи такой же, как и остов одного из двух типов цепей, которые приобретают H-специфичность при присоединении L-фукозильного остатка к терминальному остатку галактозы и соответственно специфичность A или B — при последующем присоединении N-ацетилгалактозаминильного или галактозильного остатка. Таким образом, очевидно, что на биосинтез углеводных цепей формирующихся гликопротеидных молекул могут оказывать влияние не только гены *H*, *Se*, *A* и *B*, но также ген *Le*.

У «не-секреторов» (генотип *sese*) H-реактивные группировки не образуются. Таким образом, у них имеются многочисленные углеводные цепи, к которым в присутствии гена *Le* в соответствующем положении могут присоединиться L-фукозильные остатки, сообщая им специфическую активность Le^a . Однако у «секреторов» (генотип *SeSe* или *Sese*), как можно предполагать, происходит конкуренция за эти цепи, и относительно гораздо меньшее их число будет заканчиваться группировкой, определяющей специфичность Le^a . К части цепей в зависимости от имеющихся генов присоединятся H-, A- или B-специфические группировки. Впоследствии было показано также, что в присутствии гена *Le* к некоторым цепям, к их предпоследнему остатку N-ацетилглюкозамина, может присоединяться L-фукозильный остаток, а в присутствии *H* и *Se* еще один L-фукозильный остаток, который присоединяется к следующему остатку — D-галактозе. Образующаяся сложная группировка не обладает ни Le^a -реактивностью, ни H-реактивностью, но специфичностью необычного рода (так называемая Le^b -специфичность), обнаруживаемой только при помощи антисыворотки совершенно особого типа [423]. Таким образом, между локусами *secretor* и *Lewis* явно существует взаимодействие, которое выражается в том, что у «не-секреторов» (ге-

H-специфичность

 β -Гал-(1→3)-Г-NAc-
 \uparrow 1,2
 α -Фук
 Le^a -специфичность β -Гал-(1→3)-Г-NAc-
 \uparrow 1,4
 α -Фук
 Le^b -специфичность β -Гал-(1→3)-Г-NAc-
 \uparrow 1,2 \uparrow 1,4
 α -Фук α -Фук

Ф и г. 79. Терминальные последовательности сахаров ■ полисахаридных цепях гликопротеидов, обуславливающие специфичность H, Le^a ■ Le^b (см. текст). Сокращения те же, что на фиг. 77.

нотип *sese*), обладающих геном *Le*, Le^a -активность значительно выше, чем у «секреторов», также носителей гена *Le*.

Вероятно, в биосинтезе гликолипидных группоспецифических веществ эритроцитов ген *Le* непосредственно не участвует. Это следует из того, что $Le(a+)$ -реактивность эритроцитов, ■ норме проявляющаяся только у «не-секреторов» (*sese*), в значительной мере, если не полностью, зависит от адсорбции на эритроцитах

Le^a-активных веществ, образующихся в каких-то других клетках организма, причем у «не-секреторов» в значительно больших количествах [415, 596].

IV. ПУТИ БИОСИНТЕЗА ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ГЛИКОПРОТЕИДОВ

В соответствии с поведением эритроцитов и слизистых секретов различных людей в отношении 5 специфических антител: анти-A, анти-B, анти-H, анти-Le^a и анти-Le^b—можно выделить 6 различных типов реакций (табл. 25).

Четвертая группа реакций, приведенных в табл. 25, представляет особый интерес, поскольку в этом случае эритроциты дают обычные реакции с анти-A, анти-B и анти-H в соответствии с генотипом ABO, тогда как слизистые секреты не реагируют ни с одним из этих антител. В Европе такие индивидуумы составляют около 2% населения и являются гомозиготными по «неактивным» аллелям обоих локусов — *secretor* и *Lewis*. Следовательно, они имеют генотип *sese, lele*. Однако в секретах людей этой группы содержатся гликопротеиды того же рода, что и те, которые у других людей определяют групповую специфичность. Такие гликопротеиды были даже изолированы и изучены. Их можно рассматривать как предшественники группоспецифических веществ, биосинтез которых прекратился прежде, чем произошло присоединение групп, сообщающих углеводным цепям ту или иную характерную специфичность [662].

Этот так называемый предшественник, по-видимому, представляет собой вещество, в состав которого входят углеводные цепи по крайней мере двух видов [519]; они могут быть присоединены в точке разветвления к обычной цепи, соединенной с полипептидным остовом [397, 398]. По-видимому, в обеих этих цепях терминальное положение на нередуцирующем конце занимает галактозил (табл. 26). Он присоединен к N-ацетилглюкозаминильному остатку в одной цепи (тип 1) при помощи β -1,3-связи, а в другой цепи (тип 2) — при помощи β -1,4-связи. Оказалось, что это вещество реагирует с антисывороткой против пневмококка типа XIV; такой тип специфичности приписывают терминальной структуре цепи типа 2.

Биосинтез гликопротеида-предшественника, по-видимому, контролируется целым рядом генных локусов, определяющих синтез различных ферментов, необходимых для сборки углеводных цепей. Несомненно также, что необходим по крайней мере еще один локус для детерминации последовательности аминокислот в полипептидном остове, к которому, как предполагают, присоединены углеводные цепи. Однако об этих локусах ничего не известно, поскольку пока не обнаружено каких-либо генетических различий, касающихся вещества-предшественника, у разных индиви-

сахаридных цепях
и Le^b (см. текст)

ть значительно
Le.
оспецифических
участвует. Это
оцитов, в норме
в значительной
на эритроцитах

ТАБЛИЦА 25

Шесть типов индивидуумов, различимых по реакциям их эритроцитов и секретов с анти-А, анти-В, анти-Н, анти-Le^a и анти-Le^b [662]

Комбинация генов			Специфичность, выявляемая в эритроцитах			Специфичность, выявляемая в секретах		
локус <i>H</i>	локус <i>Se</i>	локус <i>Le</i>	ABH	Le ^a	Le ^b	ABH	Le ^a	Le ^b
1. HH или Hh	SeSe или Sese	LeLe или Lele	+++	—	++	+++	+	++
2. HH или Hh	sese	LeLe или Lele	+++	+++	—	—	+++	—
3. HH или Hh	SeSe или Sese	lele	+++	—	—	+++	—	—
4. HH или Hh	sese	lele	+++	—	—	—	—	—
5. hh	SeSe или Sese	LeLe или Lele	—	+++	—	—	+++	—
6. hh	sese	lele	—	—	—	—	—	—

«Бомбей-ский» фенотип

ТАБЛИЦА 26

Генетический контроль биосинтеза структур, обуславливающих группоспецифичность крови А, В, Н, Le^a и Le^b [442]. Сокращения такие же, как на фиг. 77. Цифры в скобках указывают на две различные фукозилтрансферазы, описываемые в тексте

Образующий продукт	Окончание цепи предшествен-	Структура	Серологическая специфичность
--------------------	-----------------------------	-----------	------------------------------

ТАБЛИЦА 26

Генетический контроль биосинтеза структур, обуславливающих группоспецифичность крови А, В, H, Le^a и Le^b [442].
Сокращения такие же, как на фиг. 77. Цифры в скобках указывают на две различные фукозилтрансферазы, описываемые в тексте

Ген	Фермент, образующий продукт	Окончание цепи предшественника	Структура	Серологическая специфичность
—	—	Тип 1	β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс-	Тип XIV
—	—	Тип 2	β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс-	H
H	α -L-фукозил—трансфераза (1)	Тип 1	β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	H
		Тип 2	β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	Le ^a
Le	α -L-фукозил—трансфераза (2)	Тип 1	β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс- \uparrow 1,4 α -Фук	Тип XIV
H и Le	α -L-фукозил—трансферазы (1) и (2)	Тип 2	β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	Le ^b
		Тип 1	β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс- \uparrow 1,4 α -Фук	H
H и A	α -L-фукозил—трансфераза (1) и α -N-ацетилгалактозаминил—трасфераза	Тип 2	β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	A
		Тип 1	α -ГалНАс-(1 \longrightarrow 3)- β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	A
H и B	α -L-фукозил—трансфераза (1) и α -D-галактозил—трансфераза	Тип 2	α -ГалНАс-(1 \longrightarrow 3)- β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	B
		Тип 1	α -Гал-(1 \longrightarrow 3)- β -Гал-(1 \longrightarrow 3)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	B
		Тип 2	α -Гал-(1 \longrightarrow 3)- β -Гал-(1 \longrightarrow 4)-ГНАс- \uparrow 1,2 α -Фук	B

дуумов, у которых он был выявлен. Все четыре локуса: *ABO*, *секреторный*, *H* и *Льюис*, — о которых нам кое-что известно, очевидно, связаны только с последними стадиями биосинтеза соответствующих гликопротеидов и начинают действовать, по-видимому, лишь после того, как синтез предшественника уже завершен.

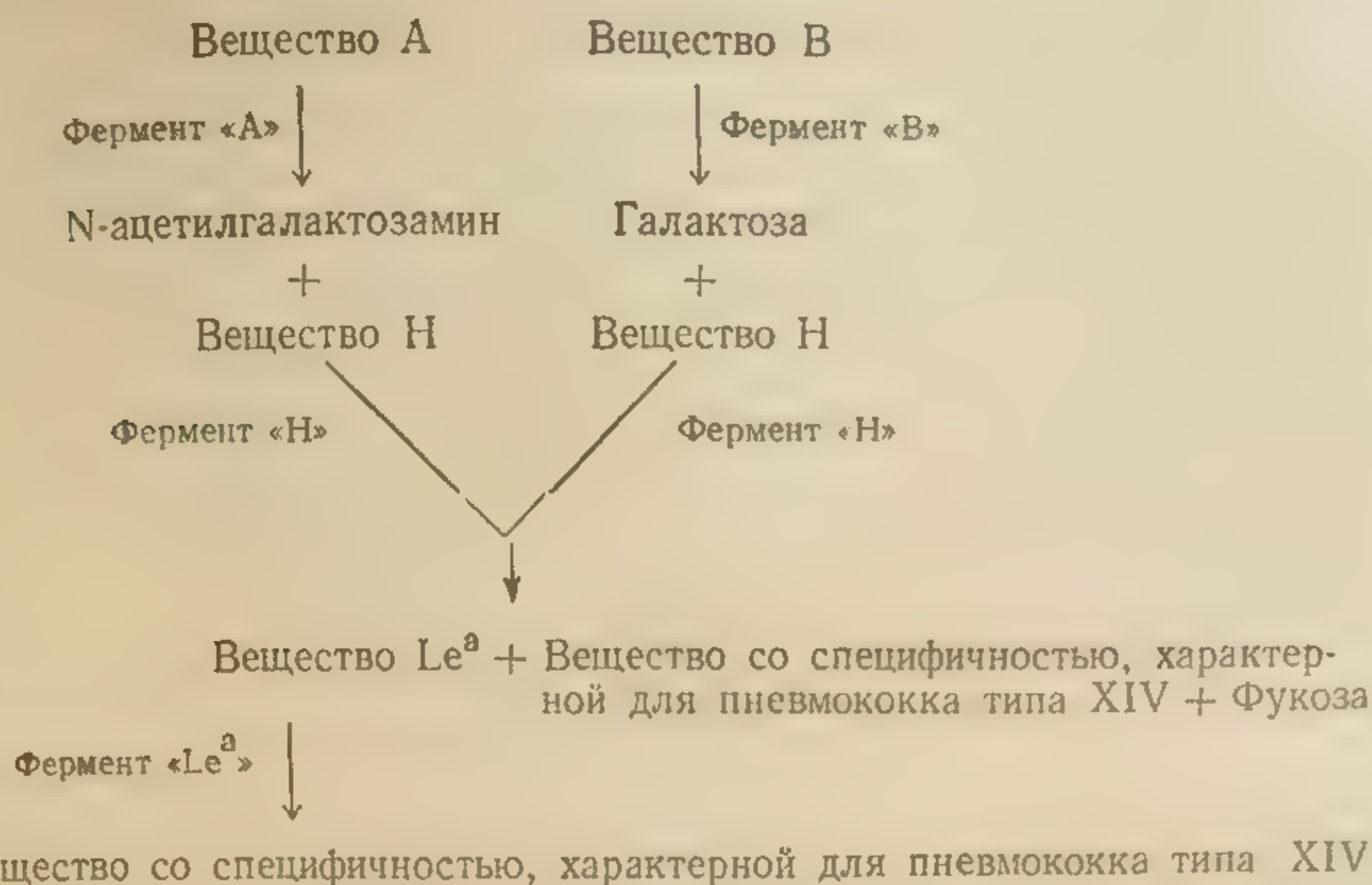
В табл. 26 [442] представлены предполагаемые пути, посредством которых различные гены, расположенные в разных локусах, могут действовать при образовании группоспецифических гликопротеидов слизистых секретов. Предполагается, что у носителя гена *Le* образуется специфический фермент фукозилтрансфераза, который осуществляет присоединение L-фукозы к атому углерода, находящемуся в положении 4 субтерминального остатка N-ацетилглюкозамина в цепях типа 1 предшественника. Этот фермент не действует на цепи типа 2, поскольку в них атом углерода в положении 4 уже замещен. Если в локусе *H* присутствует аллель *H*, а в локусе *secretor* также аллель *Se*, то образуется другая фукозилтрансфераза, присоединяющая остаток L-фукозы к атому углерода в положении 2 терминального остатка галактозы в цепях как типа 1, так и типа 2. Предварительное присоединение этого фукозильного остатка с образованием структуры, обладающей H-специфичностью, по-видимому, необходимо для того, чтобы в дальнейшем смогли вступить в действие специфические трансферазы, которые, как полагают, определяются аллелями *A* и *B* локуса *ABO*. Трансфераза «А» присоединяет при помощи α -связи остаток N-ацетилгалактозамина к третьему атому углерода концевых галактозных остатков H-активных структур. Трансфераза «В» присоединяет α -связью в том же положении D-галактозу. Другие аллели в разных локусах, например *h*-аллель в локусе *H*, *le*-аллель в локусе *Lewis* и *O*-аллель в локусе *ABO*, неактивны в процессе биосинтеза, поскольку они не приводят к образованию соответствующих трансфераз.

Таким образом, в результате обширных и разносторонних серологических, генетических и биохимических исследований выяснилось, каким образом при участии ряда гликозилтрансфераз, определяемых генами, расположенными в нескольких различных локусах, поэтапно формируется групповая специфичность этих сложных гликопротеидов. Следует отметить, что фермент, катализируя присоединение соответствующего углеводного остатка к полисахаридной цепи в процессе биосинтеза гликопротеидов и придавая ей тем самым новую антигенную специфичность, может одновременно устранить или подавить прежнюю антигенную специфичность. Так, например, присоединение остатка N-ацетилгалактозамина к H-реактивной структуре приведет не только к появлению реактивности типа А, но и к утрате H-реактивности.

Несомненный интерес представляет также тот факт, что процесс формирования той или иной групповой специфичности мо-

эп. 80. Типы специфичности
деградации

жет быть экспериментально
зуют ступенчатую деградацию
специфических ферментов.
производному остатку. В
ность реакций в таком
специфические вещества
специально обрабатывают
определяют по наличию
аллелями А, В, Н и
ленно Н-реактивности
фермент вызывает по
дифичности и специфич
на XIV. Наконец, дей
жается в исчезновении
ни специфичности.
В результате такого о
освобождается от
Роль локусов АВО
растворимых группоспе
но в основном таков
водородостойких групп
тов. Однако локусы L
веществ, по-видимому
стоящее время ост.



Ф и г. 80. Типы специфичности, выявляемые при ступенчатой ферментативной деградации А- и В-специфических веществ [662].

жет быть экспериментальным путем обращен. Для этого используют ступенчатую деградацию гликопротеидов при помощи специфических ферментов, отщепляющих каждый раз по одному углеводному остатку. На фиг. 80 представлена последовательность реакций в таком эксперименте, в котором очищенные группоспецифические вещества со специфичностью А или В последовательно обрабатывают различными ферментами, способными отщеплять определенные углеводные остатки, связанные со специфичностью А, В, Н или Le^a . Так называемые А- и В-разрушающие ферменты приводят к утрате А- и В-реактивности и к появлению Н-реактивности. Вслед за этим «Н-разрушающий» фермент вызывает потерю Н-реактивности и появление Le^a -специфичности и специфичности, характерной для пневмококков типа XIV. Наконец, действие « Le^a -разрушающего» фермента выражается в исчезновении Le^a -специфичности и в дальнейшем усилении специфичности, характерной для пневмококков типа XIV. В результате такого отщепления различных специфических групп освобождается так называемый гликопротеид-предшественник.

Роль локусов *ABO* и *H* в биосинтезе гликолипидных спирторастворимых группоспецифических веществ эритроцитов, вероятно в основном такова же, как и в биосинтезе гликопротеидов водорастворимых группоспецифических веществ слизистых секретов. Однако локусы *Lewis* и *secretor* в биосинтезе гликолипидных веществ, по-видимому, не участвуют. Чем это объясняется, в настоящее время остается неясным. Возможно, мы узнаем об этом

после того, как будет установлена структура группоспецифических гликолипидов.

Серологические методы позволили выявить также ряд других генных локусов (*Rh*, *MNS*, *Xg* и др.), аллели которых определяют наследуемые различия в антигенных веществах, образующих часть структуры эритроцитов [508]. Однако изучение природы соответствующих веществ, равно как и выяснение структурной основы связанных с ними специфических индивидуальных антигенных различий находится пока еще в начальной стадии. Можно все же ожидать, что и для них будут выявлены сложные взаимоотношения, сходные с теми, которые обнаружены для классической системы ABO.

1. «ОБЫЧНЫЕ»

В органи
ферментов и
аминокислот
тидной цепи
генного ло
каждого инд
гимента так
этого вследс
в любом дан
из целого ря
ливают опре
цепи. Таким
тели данной
синтезируем
висит от чис
в каждом из
тельной част

Исследов
в различных
значительно
вариантов,
ределяющих
рые из них
ситуация, к
делить на д
которых ха
фермента х
мом белко
В наст
мость
ко

ПОЛИМОРФИЗМ ФЕРМЕНТОВ И ДРУГИХ БЕЛКОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЧЕЛОВЕКА

1. «ОБЫЧНЫЕ» И «РЕДКИЕ» ВАРИАНТЫ

В организме человека синтезируется множество различных ферментов и других белков, и можно утверждать, что первичная аминокислотная последовательность каждой отдельной полипептидной цепи, входящей в их состав, кодируется ДНК отдельного генного локуса. Таким образом, генетическая конституция каждого индивидуума формируется на основе обширного ассортимента так называемых *структурных* генных локусов. Помимо этого вследствие мутаций, происходивших в прежних поколениях, в любом данном генном локусе может встречаться тот или иной из целого ряда различных аллелей, каждый из которых обуславливает определенный структурный вариант данной полипептидной цепи. Таким образом, степень, в которой отдельные представители данной популяции отличаются друг от друга по структуре синтезируемых ферментов и других белков, в конечном счете зависит от числа различных аллелей, которые могут присутствовать в каждом из всего этого множества генных локусов, и от относительной частоты, с которой они встречаются.

Исследования многочисленных ферментных и прочих белков в различных популяциях людей действительно позволили выявить значительное число различающихся в структурном отношении вариантов, детерминированных генетически. Многие аллели, определяющие такие варианты, встречаются редко. Однако некоторые из них распространены настолько широко, что возникает ситуация, когда представителей данной популяции удастся разделить на две или более относительно обширных групп, каждая из которых характеризуется определенным типом синтеза данного фермента или белка. Такое явление часто называют *полиморфизмом* белков.

В настоящей главе в основном будут рассмотрены встречаемость и распределение ряда вариантов ферментов и других белков в различных районах земного шара. Мы рассмотрим те выводы, которые можно сделать на основе этих данных, о масштабах разнообразия белков вообще и о том, каким образом могло возникнуть наблюдаемое распределение вариантов ферментов и про-

чих белков на земном шаре. Общее представление о характере и значении всех этих проблем, вероятно, лучше всего получить, рассмотрев в общих чертах некоторые хорошо изученные примеры.

1. Гемоглобин

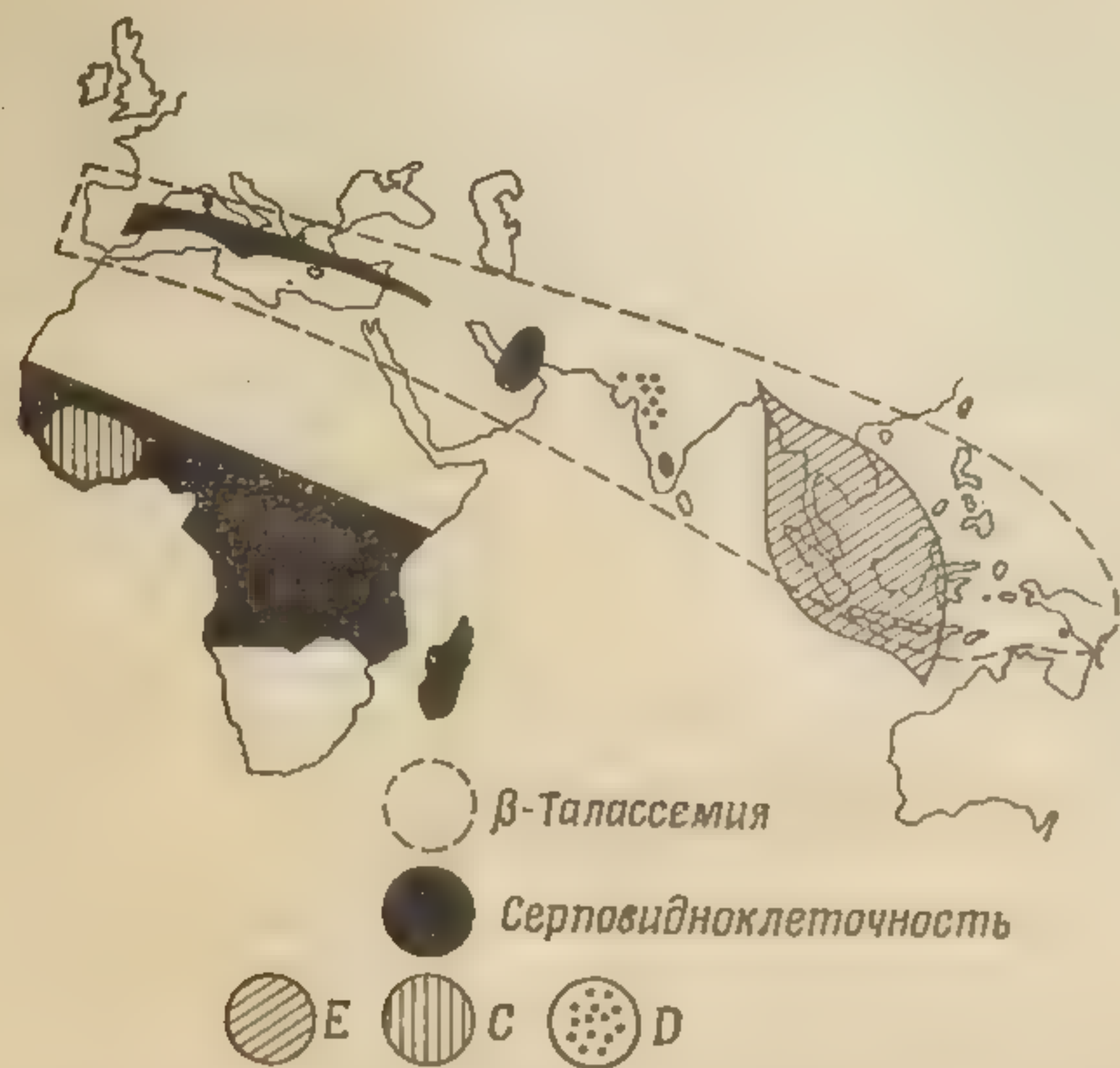
Гемоглобин А, на который приходится большая часть белка нормальных эритроцитов, изучен более детально, чем любой другой белок человека. Напомним, что этот белок представляет собой тетрамер, содержащий четыре полипептидные цепи двух различных типов (α и β). α -Цепь состоит из 141 аминокислотного остатка. Можно полагать, что последовательность аминокислот в ней кодируется геном, содержащим участок ДНК длиной не менее 423 нуклеотидов. β -Цепь содержит 146 аминокислот, которые предположительно кодируются последовательностью ДНК длиной 438 нуклеотидов. Эти два генных локуса в хромосомах, по-видимому, далеко отстоят друг от друга и не сцеплены между собой.

В результате обширного обследования больных с различными гематологическими заболеваниями, а также обследования в случайных выборках из разных популяций было обнаружено очень большое число наследственных вариантов гемоглобина А, и во многих случаях были установлены их структурные особенности. Преобладающее большинство этих вариантов, по-видимому, отличается от нормальной формы $\alpha_2\beta_2$ лишь по одной аминокислоте, которая может быть замещена в полипептидных цепях α или β . Эти варианты можно объяснить существованием аллелей генных локусов α или β , первоначально возникших в результате мутаций, которые заключались в замене одного основания на другое в определенной точке последовательности ДНК гена. В некоторых случаях в аномальной полипептидной цепи отсутствует одна или несколько аминокислот, так что аминокислотная последовательность оказывается неполной. В этом случае соответствующие аллели, вероятно, должны были возникнуть в результате мутаций, заключавшихся в выпадении небольшого участка последовательности ДНК (делеция). Известны также варианты (например, Hb-Лепоре), связанные с более значительными изменениями в структуре ДНК, затронувшими два соседних гена.

Некоторые из этих вариантов гемоглобина даже в гетерозиготном состоянии приводят к весьма серьезным заболеваниям крови. В то же время многие другие варианты, по-видимому, не связаны с какой бы то ни было патологией, причем на самом деле этих вариантов, вероятно, гораздо больше, чем принято считать, поскольку обычно обследуются предпочтительно больные с гематологическими расстройствами. Помимо этого, хотя поиски вариантов гемоглобина проводятся в широком масштабе, очевид-

Фиг. 81. Географическое

но, что обследована лишь небольшая часть земного шара. На сегодняшний день обычно используется для обозначения, как известно, обозначения (трети) всех вариантов гемоглобина. Таким образом, хотя и существует большое количество различных вариантов гемоглобина, что это всего лишь небольшая часть вариантов HbA, которые встречаются в биологическом разнообразии. Судя по текущей литературе, обнаружения новых вариантов гемоглобина. Таким образом, в настоящее время ответственность за возникновение полипептидных изменений на земном шаре распространяется на все население, так и в более недавнем прошлом. колеблется в очень широких пределах, известны, можно сказать, среди населения. Первой, наиболее распространенной группой (фиг. 81). Что касается относительной распространенности в тропических странах, то она встречается у 20%



Ф и г. 81. Географическое распространение главных гемоглобинопатий [374].

но, что обследована лишь незначительная часть всего населения земного шара. Наконец, с помощью электрофореза, который обычно используется для поисков вариантов гемоглобина, удается, как известно, обнаружить лишь часть (может быть, около трети) всех вариантов, которые могли бы вообще существовать. Таким образом, хотя в настоящее время описано большое число различных вариантов, почти не приходится сомневаться в том, что это всего лишь небольшая часть всех структурно различающихся вариантов HbA, которые в действительности встречаются среди представителей биологического вида *Homo sapiens*. Действительно, судя по текущей литературе, не создается впечатления, что темп обнаружения новых вариантов гемоглобина спадает.

Таким образом, как в α -, так и β -локусах, кодирующих соответствующие полипептидные цепи HbA, среди населения земного шара распространено очень большое число различных аллелей, возникших вследствие мутационных событий как в отдаленном, так и в более недавнем прошлом. Частота этих аллелей, однако, колеблется в очень широких пределах. Те из них, которые уже известны, можно подразделить по частоте, с которой они встречаются среди населения земного шара, на две главные резко очерченные группы.

Первая, наименьшая группа включает те аллели, которые встречаются относительно часто в той или иной популяции (фиг. 81). Что касается аллелей β -локуса, то из них к этой группе относится аллель, определяющий HbS, широко распространенный в тропической Африке, где в некоторых районах он может встречаться у 20% населения или даже чаще. Сюда же относят-

ся аллель, контролирующий HbC и встречающийся главным образом в Западной Африке, аллель, кодирующий HbE и распространенный во многих районах Юго-Восточной Азии, и аллель, определяющий HbD-Пенджаб, встречающийся с заметной частотой в некоторых районах Индии (детальный обзор по этому вопросу принадлежит Ливингстону [396]). Таким образом, в каждой из этих популяций наряду с так называемым нормальным аллелем локуса β относительно часто встречается по крайней мере еще один аллель, определяющий структурно отличную форму β -цепи. Следовательно, удастся выделить две или более довольно обширные группы в зависимости от характерных свойств синтезируемого гемоглобина. Это типичный случай генетически детерминированного «полиморфизма» белков.

К другой группе относят аллели, определяющие крайне редкие варианты гемоглобина. Их обнаруживают без какой-либо закономерности в самых разных популяциях, причем часто их носители являются членами одной семьи, которой и ограничено распространение данного аллеля. Некоторое представление о встречаемости таких редких аллелей дают результаты некоторых обследований населения, проведенных в Англии и Дании ([285, 389, 580], а также личное сообщение Лемана). В случайных выборках индивидуумов, не связанных между собой родством, проводили поиск вариантов гемоглобина, различающихся по электрофоретическим свойствам. Приблизительно из 11 000 обследованных индивидуумов 14 оказались гетерозиготами по тому или иному аллелю, обуславливающему структурный вариант α - или β -цепи. У них было выявлено 10 различных вариантов гемоглобина, из которых 4 обнаружены дважды и 6 — только в одном случае (табл. 27). Таким образом, частота каждого из этих различных

аллелей, по-видимому, составляет менее $0,0001$ (т. е. $< \frac{1}{10\,000}$).

Иными словами, частота этих аллелей, по-видимому, на несколько порядков ниже, чем, скажем, гена серповидноклеточности в Африке или аллеля HbE в Юго-Восточной Азии, которые обуславливают полиморфизм соответствующих белков.

По-видимому, в большинстве популяций встречаются множественные аллели, определяющие редкие варианты гемоглобина. Однако набор таких аллелей в разных популяциях, вероятно, различен. Важно отметить, что хотя эти варианты вообще чрезвычайно редки, в определенных популяциях тот или иной из них может встречаться с заметной частотой. Так, Леман с сотрудниками полагают, что в Европе примерно 1 индивидуум из 1000 является гетерозиготным по аллелю, определяющему какой-либо из электрофоретических вариантов HbA.

Можно вполне обоснованно считать, что на самом деле это составляет около $\frac{1}{3}$ всех существующих в популяции структурных вариантов, различающихся по одному аминокислотному

а
а
а
β
β
β
β
β
β

Всего гетерозигот

1 Общее число об

Общая доля гетеро

Число различных

Частота отдельны

статку; остальные

графореа. Поэтому

действительности

тому или иному ал

Высокую частот

лостях земного ш

няют тем, что гет

в прошлом в усл

данных географ

отборе перед но

первичная амино

гемоглобин, сфо

как более или м

ляющем больш

структуру белк

ское преимуще

до некоторой с

чаях может по

ТАБЛИЦА 27.

Редкие варианты гемоглобина,
обнаруженные при электрофоретических обследованиях населения
в Англии ■ Дании [285, 389, 580]¹⁾

Измененная полипептид- ная цепь	Аминокислотное замещение	Число гетерозигот в общей выборке
α	15 Гли \longrightarrow Асп	2
α	53 Гли \longrightarrow Асп	1
α	47 Асп \longrightarrow Гис	1
β	16 Гли \longrightarrow Асп	2
β	43 Глу \longrightarrow Ала	1
β	47 Асп \longrightarrow Асн	1
β	69 Гли \longrightarrow Асп	2
β	6 Глу \longrightarrow Лиз	1
β	26 Глу \longrightarrow Лиз	1
β	121 Глу \longrightarrow Гли	2
Всего гетерозигот		14

¹ Общее число обследованных индивидуумов 10 971.

$$\text{Общая доля гетерозигот} = \frac{14}{10\,971} = \frac{1}{784}$$

Число различных редких вариантов=10.

$$\text{Частота отдельных аллелей} = \frac{2}{21\,942} \text{ или } \frac{1}{21\,942}, \text{ т. е. } < 0,0001.$$

остатку; остальные просто не удастся выявить при помощи электрофореза. Поэтому вполне вероятно, что в северной Европе ■ действительности 1 человек из 300 является гетерозиготным по тому или иному аллелю структурного варианта HbA.

Высокую частоту аллелей, обуславливающих в некоторых областях земного шара полиморфизм гемоглобина, обычно объясняют тем, что гетерозиготы по таким аллелям имеют или имели в прошлом ■ условиях, преобладающих или преобладавших в данных географических областях, некоторое преимущество при отборе перед нормальными гомозиготами. Можно полагать, что первичная аминокислотная последовательность такого белка, как гемоглобин, сформировалась в результате естественного отбора как более или менее оптимальная для данного вида, и ■ подавляющем большинстве случаев мутантные аллели, изменяющие структуру белка, вероятно, вряд ли дают какое-либо биологическое преимущество их носителям, хотя многие из них могут быть до некоторой степени вредоносными. Однако в очень редких случаях может появиться мутант, обладающий преимуществом при

отборе в том отношении, что в последующем поколении, по крайней мере в определенных условиях среды, он может дать в среднем больше потомства, чем нормальные гомозиготы. В общем в условиях, благоприятствующих сохранению такого аллеля, будет отмечаться тенденция к увеличению его частоты в последующих поколениях. Однако если данное преимущество характерно именно для гетерозиготного состояния, так что вклад гетерозигот в следующее поколение больше, чем вклад гомозигот, то в конечном счете может установиться равновесное состояние, при котором относительно большая доля измененного аллеля, передаваемая последующему поколению гетерозиготами, будет сбалансирована относительно меньшим вкладом гомозигот. Такое состояние обычно называют сбалансированным полиморфизмом.

Ярким примером подобной ситуации служит полиморфизм признака серповидноклеточности среди африканского населения [8, 9]. Гомозиготные индивидуумы, пораженные серповидноклеточной анемией, умирают преимущественно в детстве, и лишь очень немногие из них доживают до зрелого возраста и имеют детей. Вследствие этого те аллели серповидноклеточности, которые имеются у гомозигот, в каждом последующем поколении избирательно элиминируются из популяций. Тем не менее серповидноклеточность широко распространена среди населения многих районов Африки. Поскольку исключительно высокую частоту мутирования в качестве объяснения этого факта можно в данном случае исключить [646], частая встречаемость этого аллеля в таких популяциях и поддержание ее на высоком уровне, несмотря на отрицательный отбор в отношении гомозигот по гену серпо-

ТАБЛИЦА 28

Частота серповидноклеточности среди детей, умерших от малярии в разных районах Африки [9]

	Число умерших от малярии	Фактическое число случаев серповидноклеточности среди умерших	Частота серповидноклеточности в популяции	Ожидаемое число случаев серповидноклеточности среди умерших в отсутствие селективного преимущества	Источник данных
Уганда (Кампала)	16	0	0,16	2,6	[513]
Республика Заир (Киншаса)	23	0	0,235	5,4	[363]
Бассейн Конго (Лулуаборг)	23	1	0,25	5,7	[647]
Гана (Аккра)	13	0	0,18	2,3	[149]
Нигерия (Абадан)	29	0	0,24	7,0	[149]
Всего	104	1		23,0	

видноклеточности, может иметь место лишь в том случае, если гетерозиготы имеют значительное селективное преимущество перед нормальными гомозиготами.

Действительно, согласно многочисленным данным, такое селективное преимущество для гетерозигот по гену серповидноклеточности в Африке и в самом деле существует. Оно состоит в большей устойчивости к малярии (возбудитель *P. falciparum*), которая во многих районах очень распространена и служит важной причиной смертности. Следовательно, у таких гетерозигот имеется больше шансов дожить до зрелого возраста. В табл. 28 подытожены данные для разных местностей о числе гетерозигот по гену серповидноклеточности среди детей, умерших от малярии. Из 104 случаев смерти от малярии лишь в одном была выявлена гетерозиготность по гену серповидноклеточности, хотя если бы среди таких гетерозигот смертность от малярии была такой же, как и в общей популяции, то эта величина должна была бы составлять 23. Примерно такие же соотношения отмечаются при анализе заболеваемости малярией. В табл. 29 представлены результаты обследования, проведенного в детской больнице в Кампале (Уганда [513]). Крайне примечательно, что в числе больных, поступивших с церебральной формой малярии, гетерозиготы по гену серповидноклеточности отсутствуют. Однако среди больных с неосложненной малярией серповидноклеточность встречалась примерно с такой же частотой, как и среди детей, поступивших с другими заболеваниями. Аналогичные данные были получены и в других местностях. Все они также указывают на то, что гетерозиготы по гену серповидноклеточности гораздо реже заболевают церебральной формой малярии.

Имеются и другие данные, свидетельствующие о том, что гетерозиготы по гену серповидноклеточности относительно более устойчивы к малярии, особенно в детском возрасте. Об этом, в частности, говорят данные, полученные при сравнении степени паразитемии (*P. falciparum*) у таких гетерозигот и у других индивидуумов в областях, где сильно распространен аллель серповидноклеточности и где малярия является эндемичной (см. по этому вопросу детальный обзор Аллисона [9]). Показано также, что высокая частота аллеля серповидноклеточности вообще характерна только для тех районов, где малярия является или была до недавнего времени эндемичной, а также для популяций, происходящих из таких районов (например, для американских негров).

По-видимому, развитие возбудителя малярии (*P. falciparum*) у гетерозигот по аллелю серповидноклеточности, в эритроцитах которых присутствует смесь HbA и HbS, подавляется в большей степени, чем у непораженных индивидуумов, в эритроцитах которых содержится только HbA. В этом, очевидно, и состоит причина того, что у детей, гетерозиготных по гену серповиднокле-

ТАБЛИЦА 29

Частота серповидноклеточности среди 818 больных, поступивших в одну из детских больниц в Кампале [513]¹⁾

Диагноз	Всего	Число больных с серповидноклеточностью	Частота серповидноклеточности
Пневмония	118	18	0,15
Инфекции верхних дыхательных путей	59	13	0,22
Диаррея и рвота	106	25	0,24
Полиомиелит	26	4	0,16
Туберкулез	37	8	0,22
Менингит (гнойный)	26	5	0,19
Дистрофия	77	11	0,14
Анкилостомоз	30	2	0,07
Брюшной тиф	17	6	0,35
Малярия	Неосложненная	83	0,16
	Церебральная	47	0,00
	Гемоглобинурийная	6	0,00
Смешанная группа	186	25	0,13
Итого	818	130	0,16

1) Не включен лишь 31 больной с серповидноклеточной анемией, поступивший за тот период в течение которого проводилось обследование.

точности, реже встречаются серьезные осложнения малярии. Поэтому в тех областях, где малярия является главной причиной смерти в детском возрасте, вероятность выжить и дать потомство для гетерозигот выше. Различия в восприимчивости к малярии, видимо, наиболее выражены в раннем возрасте. Впоследствии эти различия сглаживаются вследствие приобретенного иммунитета.

Точные биохимические основы таких различий в восприимчивости к малярии еще не совсем ясны. Весьма трудно количественно оценить степень селекционного преимущества гетерозигот по гену серповидноклеточности в той или иной популяции. Однако можно теоретически вычислить величину селективного преимущества, которая необходима для поддержания определенной частоты данного аллеля в популяции за счет избирательного выживания гетерозигот. Простая модель [491, 492] популяции со сбалансированным полиморфизмом, находящейся в состоянии равновесия, представлена в табл. 30. Совершенно очевидно, что если все гомозиготы (*aa*) по данному аллелю умирают в детст-

се и следовательно...
...случае...
...сравнению с...
...около 11%...
...гетерозиготами...
...что наблюдаемые...
...малярии в разных...
...зались достаточны...
...степень селективн...

Модель по...
обусловленным

Генотип	Относительная частота при зачатии (генотипы зигот)
	(1)

AA	p^2
Aa	$2pq$
aa	q^2
Все типы	1

1) Три генотипа, A по вероятности иметь п...
...зависит от поколения...
...казывает относительную...
...для поддержания сбаланс...
...генотипом aa умираю...
...родителей составляет 2

Полиморфизм...
именно HbS в...
также объясня...
ствие неодина...
анализ геогр...
морфизма за...
ли бы служи...
очень мало...
ношении тал...
фического р...
водит на мь...
тора отбора...
частота (0,6...
характерна...
тех частей...

ве и, следовательно, не оставляют потомства, то частота этого аллеля сможет поддерживаться на уровне не менее 0,1 только в том случае, если селективное преимущество гетерозигот (Aa) по сравнению с «нормальными» гомозиготами (AA) будет составлять около 11%. Тогда около 20% взрослого населения будет гетерозиготами. Подобные расчеты позволяют сделать вывод, что наблюдаемые различия в заболеваемости и смертности от малярии в разных районах Африки сейчас или в прошлом оказались достаточными для того, чтобы обеспечить необходимую степень селективного преимущества.

ТАБЛИЦА 30

Модель популяции со сбалансированным полиморфизмом, обусловленным селективным преимуществом гетерозигот [491, 492]¹⁾

Генотип	Относительная частота при зачатии (генотипы зигот)	Относительная приспособленность	Относительная частота среди родителей (родительские генотипы)	Случай, когда $p=0,9$, $q=0,1$, ■ генотип aa летален в детстве		
	(I)	(II)	(III) = (I) × (II)	(I)	(II)	(III)
AA	p^2	$1 - k/p^2$	$p^2(1 - k/p^2)$	81	0,988	80
Aa	$2pq$	$1 + k/pq$	$2pq(1 + k/pq)$	18	1,111	20
aa	q^2	$1 - k/q^2$	$q^2(1 - k/q^2)$	1	0,000	0
Все типы	1	—	1	100	—	100

1) Три генотипа, AA , Aa и aa , различаются по своей относительной приспособленности, т. е. по вероятности иметь потомство. Однако частоты p и q для двух аллелей (A и a) остаются одинаковыми от поколения к поколению (предполагается случайное скрещивание). Этот пример показывает относительную приспособленность индивидуумов с генотипами AA и Aa , необходимую, для поддержания сбалансированного полиморфизма при $p=0,9$ и $q=0,1$, считая, что индивидуумы с генотипом aa умирают в детстве (т. е. их приспособленность=0). Частота гетерозигот среди родителей составляет 20%.

Полиморфизм в отношении других вариантов гемоглобина, а именно HbC в Западной Африке и HbE в Юго-Восточной Азии, также объясняют селективным преимуществом гетерозигот вследствие неодинаковой восприимчивости к малярии. Однако, хотя анализ географического распространения названных видов полиморфизма заставляет задуматься, прямых данных, которые могли бы служить доказательством такого предположения, все же очень мало. То же самое можно сказать и о полиморфизме в отношении талассемии. В данном случае опять-таки анализ географического распространения соответствующих аллелей также наводит на мысль о возможном значении малярии в качестве фактора отбора. Так, например, в Италии относительно высокая частота (0,05...0,10) различных аллелей β -талассемии, особенно характерна для Феррары, Сардинии и южных районов, т. е. для тех частей страны, где эндемичная малярия является или до не-

давнего времени была одной из главных причин смерти [57]. Такого же рода связь между распространением талассемии и малярии наблюдается и в других странах. Следует отметить, что болезнь Кули, или *thalassemia major*, поражающая индивидуумов, гомозиготных по этим аллелям, является вообще очень тяжелым заболеванием и значительно снижает для гомозигот вероятность дожить до зрелого возраста. Поэтому для того, чтобы объяснить, каким образом аллели талассемии, вызывающие эту болезнь, достигли высокой частоты, наблюдаемой во многих географических областях, приходится постулировать значительное селекционное преимущество гетерозигот.

2. Глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназа (Г-6-ФД)

В настоящее время известно около 30 различных форм Г-6-ФД. Каждая из них отличается от нормального фермента и от остальных вариантных форм по ряду свойств, например по электрофоретической подвижности, константам Михаэлиса, термостабильности и оптимуму pH. Весьма вероятно, что в большинстве случаев эти варианты Г-6-ФД различаются лишь по одной аминокислоте, подобно тому, как это обнаружено для гемоглобинов. По-видимому, они определяются рядом аллелей одного и того же определенного локуса, находящегося в X-хромосоме.

Частота и распределение этих аллелей в различных популяциях во многих отношениях сходны с тем, что наблюдается для аллелей гемоглобина. Многие из них встречаются редко, однако некоторые аллели в тех или иных популяциях распространены очень широко, что и создает характерную картину полиморфизма. Так, наряду с аллелем Gd^B , определяющим нормальную форму фермента, во многих районах Африки встречаются два других аллеля, Gd^{A-} и Gd^A , с частотой около 0,2, хотя в других географических областях они или редки, или же отсутствуют вовсе. Измененный белок, определяемый Gd^{A-} , вызывает хорошо известную «негритянскую» форму недостаточности Г-6-ФД, которая лежит в основе чувствительности к примахину, а также вызывает ряд других неблагоприятных реакций на лекарственные вещества. Однако во всех других отношениях, помимо этой идиосинкразии к лекарственным препаратам, носители данного аллеля, по-видимому, вполне здоровы. Другое, обычно встречающееся у негров нарушение, определяемое аллелем Gd^A , связано лишь с очень небольшим понижением содержания фермента и, по-видимому, безвредно.

Во многих районах южной Европы и Ближнего Востока часто встречается другой вид полиморфизма Г-6-ФД, определяемый высокой частотой аллеля, $Gd^{Mediterranean}$. Этот аллель определяет другую форму недостаточности Г-6-ФД и вызывает пред-

3. Варианты глп
Вариантные
другой хорошо
лы гаптоглобина
и и β, и больш
лелями локуса
на от того, ч
сколько в ч
(Hr^{1s}, Hr^{1f} и
ными по всем
встречаются в
населения Азии
Описан целый
и по β-локусу
Особый ин
из различий

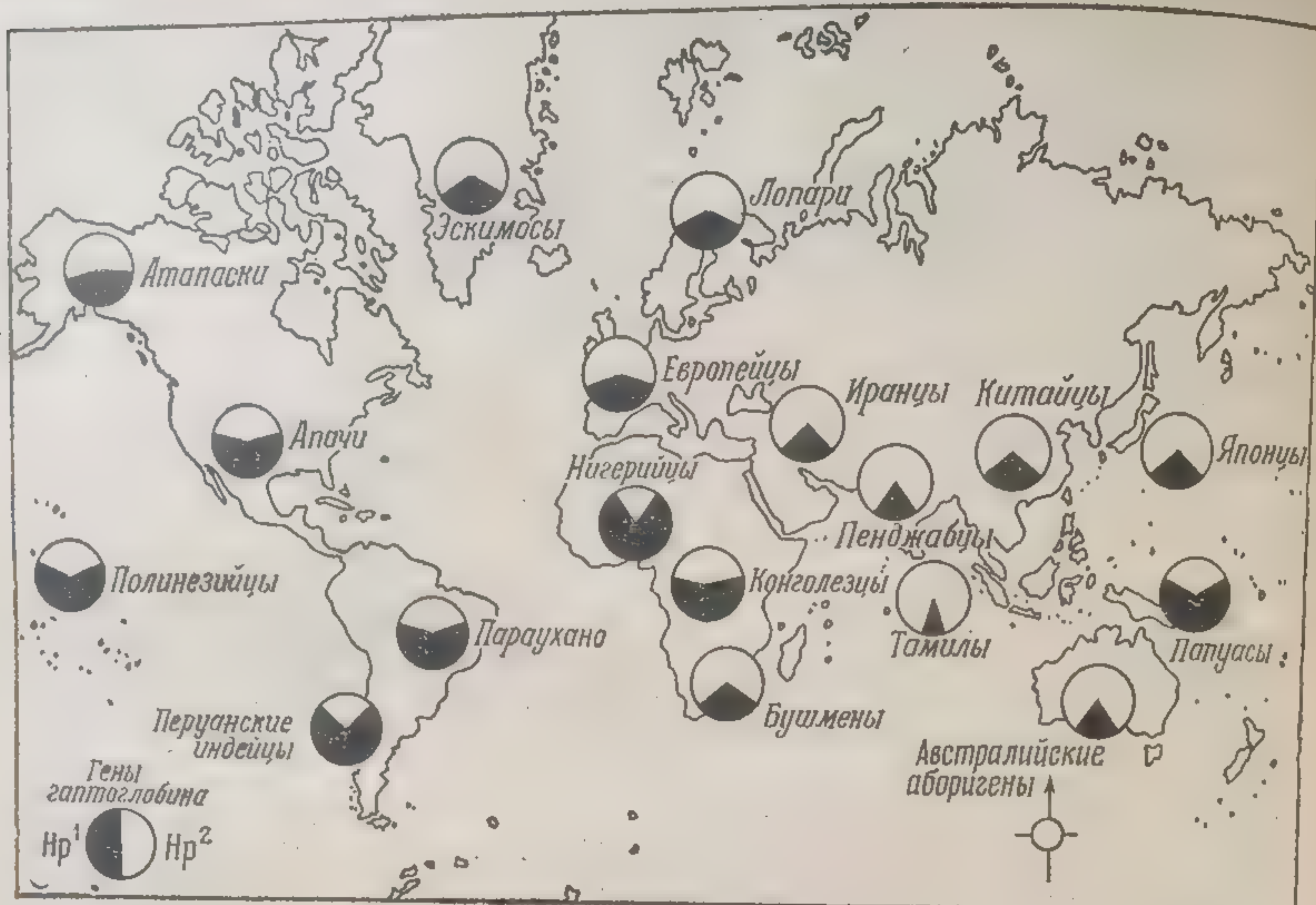
расположение к гемолитической болезни, известной под названием фавизма. Эта болезнь проявляется у пораженных индивидуумов, когда они едят конские бобы (*Vicia faba*), — обычный род пищи в этой части земного шара. Известны и другие аллели Г-6-ФД, которые часто встречаются в тех или иных географических районах, например Gd^{Canton} в Юго-Восточной Азии и Gd^{Athens} в Греции. Однако распространение этих аллелей изучено недостаточно.

Поскольку популяции, в которых различные формы недостаточности Г-6-ФД отмечаются с высокой частотой, происходят из тех районов, где малярия является или была в прошлом главной причиной смертности, было высказано предположение [448], что и здесь, как и в случае серповидноклеточности, малярия могла послужить важным фактором отбора, определившим преобладание данных аллелей Г-6-ФД (например Gd^A среди негров и $Gd^{Mediterranean}$ среди населения южной Европы и Ближнего Востока). По-видимому, малярийные паразиты развиваются хуже именно у тех индивидуумов, в эритроцитах которых активность Г-6-ФД снижена и вследствие этого имеет место некоторая аномалия обмена. Имеются данные [199, 404] в пользу того, что эти аллели действительно придают своим носителям некоторое селективное преимущество в районах, эндемичных по малярии. Следует, однако, отметить, что аллель Gd^A , который в Африке столь же распространен, как и аллель Gd^A , и столь же редок или совсем не встречается в других географических районах, тем не менее не вызывает, в отличие от Gd^A , заметной недостаточности Г-6-ФД и, видимо, вряд ли может изменить метаболизм в эритроцитах.

3. Варианты гаптоглобина

Вариантные типы гаптоглобина (гл. III) представляют собой другой хорошо изученный пример изменчивости белков. Молекулы гаптоглобина построены из двух видов полипептидных цепей, α и β , и большинство обнаруженных вариантов определяется аллелями локуса α . Однако картина распределения аллелей отличается от того, что наблюдается для гемоглобина и Г-6-ФД, поскольку в данном случае по крайней мере три аллеля (Hr^{1S} , Hr^{1F} и Hr^2) являются обычными и широко распространенными по всему миру [330]. Среди населения Европы и Африки встречаются все три аллеля, хотя и с различной частотой; среди населения Азии с относительно высокой частотой встречаются аллели Hr^{1S} и Hr^2 , тогда как Hr^{1F} может встречаться редко [577]. Описан целый ряд других очень редких аллелей как по α -, так и по β -локусу гаптоглобина.

Особый интерес представляет то обстоятельство, что, исходя из различий в структуре белка, можно сделать некоторые выводы



Ф и г. 82. Географическое распространение аллелей Hr^1 и Hr^2 [330].

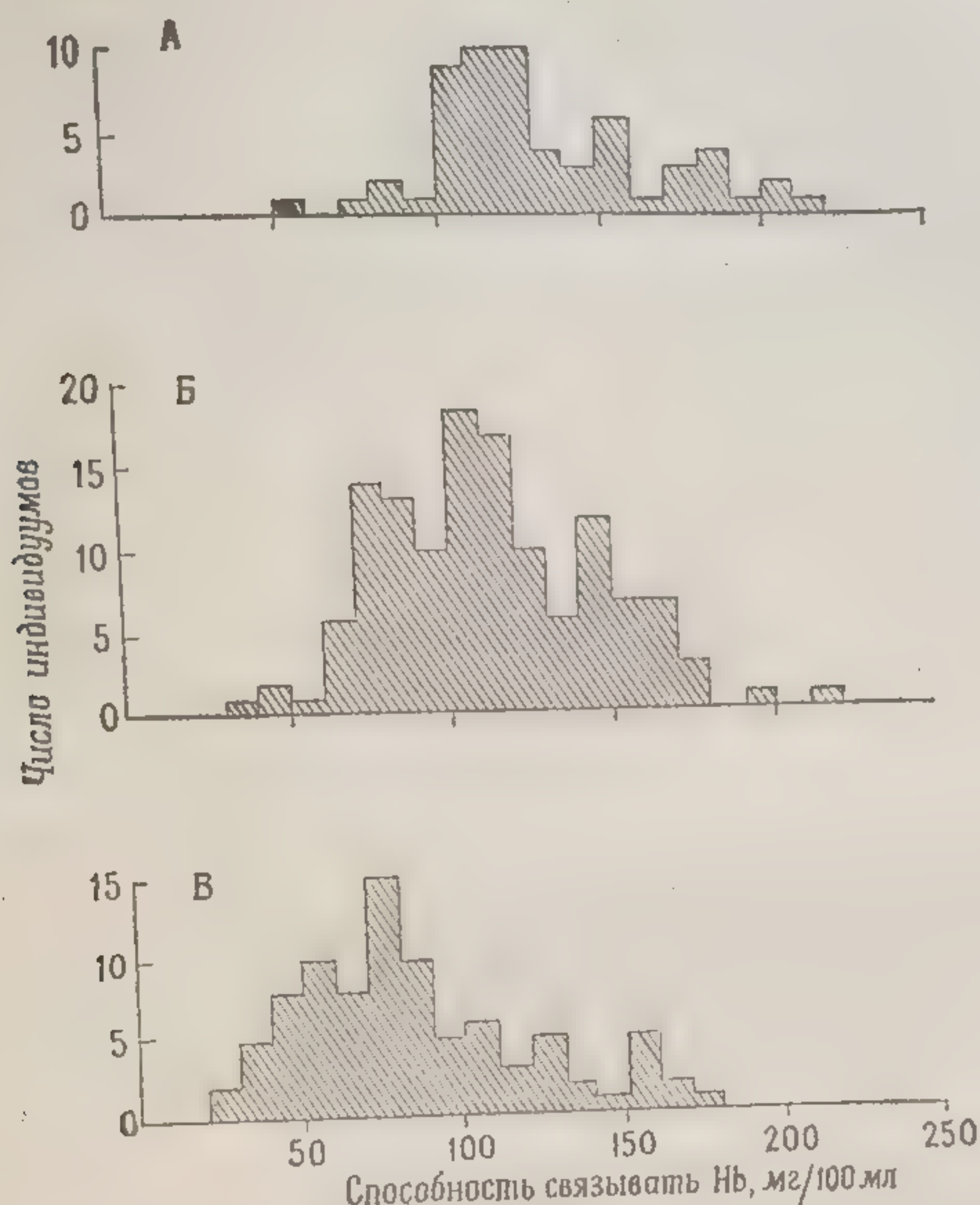
ды о происхождении этих аллелей [591]. α -Полипептиды, определяемые аллелями Hr^{1F} и Hr^{1S} , содержат по 83 аминокислоты, отличаясь друг от друга только по одной из них [61]. α -Полипептид, определяемый аллелем Hr^2 , почти вдвое длиннее (142 аминокислоты) и, по-видимому, представляет собой продукт слияния конец в конец полипептидов hr^{1Fa} и hr^{1Sa} , причем последовательность из 24 аминокислотных остатков в месте слияния утрачена. Вероятно, этот полипептид возник в результате мутации, связанной с хромосомной перестройкой у индивидуума, который был гетерозиготным по аллелям Hr^{1F} и Hr^{1S} . Иными словами, новый аллель скорее всего возник в популяции, уже бывшей полиморфной по аллелям Hr^{1F} и Hr^{1S} . Далее, особенности структуры этого полипептида определяют весьма характерную полимеризацию молекул гаптоглобина, которая легко обнаруживается при помощи электрофореза в крахмальном геле. Поскольку это свойство не присуще гаптоглобинам других животных, в том числе высших обезьян [438], весьма вероятно, что мутация, которая привела к возникновению аллеля Hr^2 , произошла уже после отделения линии гоминид. Тем не менее этот аллель широко распространен повсеместно на земном шаре, и в настоящее время он является наиболее обычным из трех упомянутых аллелей (фиг. 82).

Таким образом, речь в данном случае, по-видимому, идет об эволюционном изменении структуры белка, и можно думать, что

Ф и г. 83. Рас-
1-1(A), Hr^2 -1

Приведе

эта новая
при отбор
личных с
трудно оп
К сож
ной функ
ладает ха
свободны
значение
зано [47
 Hr^2 -1 и
зывать п
1-1(A), Hr^2 -1



Ф и г. 83. Распределение индивидуумов с обычными типами гаптоглобина, Нр 1-1(А), Нр 2-1(Б) и Нр 2-2 (В) по гемоглибинсвязывающей способности сывороток [472].

Приведены средние величины и стандартные отклонения для каждого типа.

	Нр 1-1	Нр 2-1	Нр 2-2
Средняя величина	136	108	82
Стандартное отклонение	30	37	34

эта новая структура придает ему определенное преимущество при отборе. Тем не менее на основании того, что известно о различных свойствах обычных типов гаптоглобинов, все же очень трудно определить, в чем именно состоит это преимущество.

К сожалению, физиологическая роль гаптоглобина в нормальной функции организма все еще далеко не ясна. Гаптоглобин обладает характерным свойством прочно и специфически связывать свободный гемоглобин, и эта реакция, возможно, имеет некоторое значение в связи с сохранением железа в организме. Было показано [472], что соотношение трех типов гаптоглобина (Нр 1-1, Нр 2-1 и Нр 2-2) в сыворотке, определяемое по способности связывать гемоглобин, в среднем составляет приблизительно 135:110:85, причем эти распределения перекрываются (фиг. 83).

Комплекс гаптоглобин — гемоглобин, по-видимому, служит субстратом для фермента печени α -метенилоксигеназы, который, как полагают, связан с образованием желчных пигментов [457]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что Нр 2-2 несколько более эффективен в качестве субстрата, чем Нр 2-1 и Нр 1-1 [456]. Однако пока не доказано, что различия связаны со сколько-нибудь заметными различиями в обмене веществ или с какой-либо патологией. Следует также отметить, что существует ряд аллелей гаптоглобина, которые, по-видимому, определяют резкое снижение содержания гаптоглобина в сыворотке, а в некоторых случаях полную неспособность к его синтезу. По крайней мере один из таких аллелей встречается с высокой частотой среди негров [196] и не выявляется в других популяциях. Однако индивидуумы с такой генетически обусловленной недостаточностью гаптоглобина, по-видимому, не обладают какими-либо другими выраженными фенотипическими особенностями, которые могли бы иметь значение при отборе.

Вообще приходится, по-видимому, допустить, что если между обычными типами гаптоглобина и имеются какие-то различия, имеющие значение при отборе, то они очень незначительны, или же что они имели гораздо большее значение в прошлом, но впоследствии по каким-то неизвестным нам причинам утратили его вследствие изменений в среде обитания.

4. Фосфоглюкомутаза

Было показано, что все сложное многообразие изоферментов фосфоглюкомутазы в тканях человека (гл. II) определяется тремя различными не сцепленными между собой локусами. Было обнаружено довольно большое число электрофоретических вариантов фосфоглюкомутазы, контролируемых аллелями по каждому из этих локусов. Частота и распределение этих аллелей для разных локусов сильно варьируют.

В локусе PGM_1 могут присутствовать два обычных аллеля, что приводит к полиморфизму, распространенному повсеместно. Среди европейцев частота аллелей PGM_1^1 и PGM_1^2 составляет соответственно около 0,76 и 0,24; весьма близкая к этому частота наблюдается также в различных других этнических группах, в том числе в различных популяциях Африки и Юго-Восточной Азии. Тот факт, что частота этих двух обычных аллелей в различных популяциях примерно одинакова, несомненно, служит свидетельством устойчивости полиморфизма в данном случае. Обнаружен также целый ряд других вариантов, определяемых другими аллелями в том же локусе; однако все они встречаются чрезвычайно редко.

Широко распространен также полиморфизм, связанный с двумя обычными аллелями локуса PGM_3 . Однако в данном случае

относительная частота этих двух аллелей в разных популяциях сильно различается. Среди европейцев аллель PGM_1^1 встречается приблизительно втрое чаще, чем аллель PGM_3^2 , тогда как среди африканского населения аллель PGM_3^2 встречается примерно вдвое чаще, чем PGM_1^1 . Таким образом, если среди европейцев наиболее распространен фенотип PGM_{31} , то в Африке наиболее распространенным фенотипом является PGM_{32} .

Наконец, совсем иная ситуация характерна для локуса PGM_2 . Большинство людей на земном шаре имеют в этом отношении одинаковый фенотип (фермент исследовали путем электрофореза) и являются, по-видимому, гомозиготными по обычному аллелю PGM_2^1 . Правда, был обнаружен ряд электрофоретически различающихся вариантов, однако, за исключением одного, который определяется аллелем, встречающимся среди негритянского населения во многих районах (обычно с частотой около 0,005), все они относятся к числу чрезвычайно редких.

Эти варианты фосфоглюкомутазы были обнаружены в ходе выполнения программы электрофоретического обследования, целью которого было выявление обычных полиморфных различий. Для обследования были отобраны в основном здоровые люди; каких-либо указаний на то, что обычные варианты типы этого фермента связаны с какими-то заметными функциональными различиями, которые могли бы иметь значение для отбора, не имеется. Если такие различия и существуют, то они, вероятно, очень незначительны.

II. МАСШТАБЫ ПОЛИМОРФИЗМА

1. Исследования ферментов

Приведенные выше примеры до некоторой степени позволяют представить себе вариабельность аллелей в различных генных локусах. По-видимому, для некоторых локусов при наличии многочисленных аллелей тем не менее какой-то один аллель можно рассматривать как обычный, нормальный аллель, распространенный повсеместно, тогда как другие аллели чрезвычайно редки. Что касается других локусов (например, β -локуса гемоглобина или локуса Г-6-ФД), то хотя для них характерна такая ситуация, при которой имеется обычный аллель, но при этом какие-то другие аллели распространены с достаточной частотой в тех или иных популяциях, так что возникает обычный полиморфизм. Наконец, существуют локусы (например, локус α -гаптоглобина и локусы PGM_1 и PGM_3), для которых полиморфизм является правилом. В таких случаях во многих популяциях с относительно высокой частотой встречаются сразу два или более аллелей данного локуса. В таких случаях, по-видимому, нет оснований рас-

ТАБЛИЦА 31

Результаты электрофоретического исследования
20 произвольно выбранных ферментов у европейцев и негров¹⁾

Фермент	Среди европейцев			Среди негров			Источник данных
	аллель 1	аллель 2	аллель 3	аллель 1	аллель 2	аллель 3	
Кислая фосфатаза эритроцитов	0,36	0,60	0,04	0,17	0,83	—	[268]
Фосфоглюкомутаза							
Локус PGM_1	0,77	0,23	—	0,79	0,21	—	[601]
Локус PGM_3	0,74	0,26	—	0,37	0,63	—	[266]
Аденилаткиназа	0,95	0,05	—	1,00	—	—	[170]
Пептидаза А	1,00	—	—	0,90	0,10	—	[382]
Пептидаза D (пролидаза)	0,99	0,01	—	0,95	0,03	0,02	[384]
Аденозиндезаминаза	0,94	0,06	—	0,97	0,03	—	[603]

1) Другими изученными ферментами являлись: фосфогексоизомераза, малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, гексокиназа эритроцитов, лактатдегидрогеназа, метгемоглобинредуктаза, пироглюкаты эритроцитов, пируваткиназа, кислая фосфатаза плаценты, пептидазы В и С, нуклеозидфосфорилаза, триозофосфатизомераза и «оксидаза» эритроцитов. Ни для одного из этих ферментов не было найдено обычного полиморфизма по электрофоретическим свойствам, хотя и было обнаружено много редких вариантов. Приведены лишь данные для распространенных аллелей частота $>0,01$). Были обнаружены также многочисленные «редкие» аллели.

обследования (проводился анализ на 20 разных ферментов) было выявлено семь локусов, проявляющих такую степень полиморфизма. Частота каждого аллеля приведена в табл. 31. В пяти случаях полиморфизм отмечается как в европейских, так и в африканских популяциях, в одном случае (аденилаткиназа) он найден только у европейцев и также в одном случае (пептидаза А) — только у африканцев.

Итак, в каждой из обследованных этнических групп полиморфизм, по-видимому, отмечается примерно для четверти всех локусов изученных ферментов. Однако, несомненно, на самом деле полиморфизм должен встречаться гораздо чаще уже по одному тому, что обследование проводилось только по электрофоретическим различиям. Более того, разрешающая способность этого метода для разных ферментов оказалась весьма различной, и вполне вероятно, что некоторые случаи полиморфной изменчивости остались незамеченными.

Хотя общее число изученных таким образом ферментов все еще не очень велико, полученные результаты недвусмысленно указывают на то, что для значительной части всех генных локусов, кодирующих структуру полипептидов, вероятно, характерен

полиморфизм. Небезынтересно, что очень сходные результаты получены при аналогичных исследованиях ферментов, проведенных на популяциях различных видов дрозофилы [274, 308, 386, 610]. Данные, полученные к настоящему времени для других биологических видов, позволяют предполагать, что подобный полиморфизм ферментов и других белков представляет собой общее явление для большинства природных популяций животных.

О повсеместной распространенности такого рода полиморфизма свидетельствуют также многочисленные примеры, обнаруженные недавно, главным образом случайно, в ходе других исследований. В настоящее время показано, что приблизительно 30 различных ферментных и других белков человека в одной или более основных этнических группах населения обнаруживают полиморфизм (см. приложение II). Интересно отметить, что некоторые из этих случаев полиморфизма не удастся выявить при помощи электрофореза; для этого требуются другие методы.

При некоторых видах полиморфизма при наличии обычных четко различимых электрофоретических типов ферментов отмечаются значительные количественные различия в ферментативной активности или в концентрации белка, определяемых обычными методами. Особенно показательный пример такой ситуации — полиморфизм Г-6-ФД (стр. 131—138), кислой фосфатазы эритроцитов (стр. 144—150) и холинэстеразы сыворотки (стр. 120—126). Другой пример — обычные варианты 6-фосфоглюконат-дегидрогеназы [484] и сывороточного белка-ингибитора α_1 -трипсина [165]. Весьма вероятно, что будет обнаружено много других структурных вариантов ферментов и других белков с измененной активностью, причем такие количественные различия, возможно, будут иметь какое-то функциональное или метаболическое значение. Однако в тех случаях, когда такие различия незначительны, а несомненно именно так весьма часто и обстоит дело, их выявление может оказаться затруднительным и потребовать применения весьма специализированных методик. В этом направлении предстоит еще большая работа.

Особый интерес в этой связи представляет возможность того, что в некоторых случаях обычные структурные варианты данного фермента или другого белка, для которого характерен полиморфизм, могут различаться качественно, а не только количественно. По-видимому, именно с такой ситуацией мы сталкиваемся в случае хорошо известного полиморфизма по группам крови АВО (гл. VII). В этом случае аллели А и В обуславливают характерные антигенные различия, поскольку они контролируют синтез гликозилтрансфераз, обладающих качественно различной специфичностью. Фермент А, по-видимому, избирательно переносит остаток N-ацетилгалактозамина от нуклеозиддифосфата к концу олигосахаридной цепи определенного типа, тогда как фермент В переносит остаток D-галактозы.

2. Средняя степень гетерозиготности

Широкое распространение полиморфизма ферментов и белков вообще свидетельствует о том, что каждый данный индивидуум является гетерозиготным по многим генным локусам. В связи с этим интересно было бы определить, насколько велика в среднем степень такой гетерозиготности. Иными словами, какова у одного индивидуума доля генных локусов, в которых могут существовать два различных аллеля, кодирующих структурно различные варианты соответствующего белка.

Приближенная оценка этого параметра может быть получена на основании данных, аналогичных тем, которые представлены в табл. 31. В этой таблице приводится оценка частоты аллелей, определяющих электрофоретические различия в ряду произвольно отобранных ферментов, у представителей двух различных популяций — европейцев и негров. Можно определить долю индивидуумов в данной популяции, являющихся гетерозиготными по аллелям каждого из локусов, по которым был обнаружен полиморфизм (здесь мы имеем в виду локусы, обуславливающие электрофоретически различные формы данного ферментного белка). Эти величины представлены в табл. 32. На основании того, что известно об изученных ферментах, маловероятно, чтобы при помощи применяемых в этом обследовании методов были отобраны по электрофоретическим свойствам полипептидные цепи более чем 27 различных локусов. А если это так, то оценку средней степени гетерозиготности в случае аллелей, определяющих электрофоретические различия, можно было бы получить, сложив величины, приводимые в табл. 32, и разделив их на 27. Средняя величина для одного локуса, полученная таким способом, составляет для европейского населения 0,054 и для негров — 0,052. Интересно, что, хотя средние величины для этих двух популяционных групп очень близки между собой, вклад разных локусов в эти величины в некоторых отношениях различается весьма значительно.

Если предположить, что большинство этих электрофоретических вариантов ферментных белков различается всего по одной аминокислоте, то на основании того, что известно о генетическом коде и об аминокислотном составе белков, можно ожидать, что обнаруженные варианты представляют собой примерно одну треть всех полиморфных вариантных форм, встречающихся в действительности. Поскольку нет никаких оснований полагать, что феномен полиморфизма ферментов связан именно с изменением заряда молекул, можно с достаточным основанием полагать, что средняя степень гетерозиготности в расчете на локус для аллелей, дающих структурные различия ферментов или других белков, приблизительно втрое выше, чем рассчитано только на основании данных электрофоретического обследования. В таком случае сред-

ТАБЛИЦА 32

Оценка средней гетерозиготности на локус по данным обследования 20 произвольно выбранных ферментов среди европейцев и негров (см. табл. 31)¹⁾

Фермент	Частота гетерозигот	
	европейцы	негры
Кислая фосфатаза эритроцитов	0,51	0,28
Фосфоглюкомутаза		
Локус PGM_1	0,35	0,33
Локус PGM_3	0,38	0,47
Аденилаткиназа	0,09	—
Пептидаза А	—	0,16
Пептидаза D (пролидаза)	0,02	0,10
Аденозиндезаминаза	0,11	0,06
Средняя гетерозиготность (обнаруженная электрофоретическим путем) в расчете на локус (считая, что обследовано 27 локусов)	0,054	0,052
Средняя гетерозиготность в расчете на локус для аллелей, определяющих все структурные варианты ферментов и белков (т. е. число электрофоретических вариантов $\times 3$).	0,162	0,156

1) Приведены только локусы, для которых частота гетерозигот превышает 0,01.

ная степень гетерозиготности на локус составляет для европейцев около 0,162 и для негров около 0,156.

Согласно этим расчетам, тот или иной индивидуум может быть гетерозиготным приблизительно по 16% локусов, контролирующих структуру ферментов и, вероятно, также других белков. Весьма близкую оценку средней степени гетерозиготности человека представил Левонтин [385] на основании данных, полученных при исследовании антигенов групп крови с использованием значительно менее прямого способа расчета.

Общее число различных генных локусов, связанных с определением структуры огромного множества различных белков в организме человека, неизвестно. Вероятно, оно значительно превышает 10 000 и вполне может быть даже выше 100 000, но даже и эта последняя цифра, вероятно, всего лишь небольшая доля общего числа генов, рассчитанного исходя из содержания ДНК в клетке. Таким образом, принимая для числа таких локусов структурных генов величину 50 000 и допуская, что средняя степень гетерозиготности составляет около 16%, можно прийти к выводу, что у каждого

Из этих об-
следствие: ясно,
ном и вообще
значительной. С
зия можно по
морфизме белк
ляции. Соответ
ментов, для к
приведены в т
соответствующ
видно, встреча
ной популяци
личных фенол
столбце этой
обычная ком
у 1,8% данн
16—843

индивидуума примерно в 8000 локусов могут присутствовать два различных аллеля, из которых каждый контролирует синтез структурно различающихся форм данного белка.

ТАБЛИЦА 33

Частота различных комбинаций ферментов среди населения Англии

Фермент	Число аллелей, встречающихся с частотой более 0,01	Частота наиболее распространенного фенотипа	Вероятность одинакового фенотипа у двух отобранных наугад индивидуумов	Источник данных
Кислая фосфатаза эритроцитов	3	0,43	0,34	[268]
Фосфоглюкомутаза				
Локус PGM_1	2	0,58	0,47	[601]
Локус PGM_3	2	0,54	0,45	[266]
Щелочная фосфатаза плаценты	3	0,42	0,30	[529]
Ацетилтрансфераза печени	2	0,50	0,50	[161]
Аденилаткиназа	2	0,90	0,82	[170]
Сывороточная холинэстераза				
Локус E_1	2	0,96	0,92	[318]
Локус E_2	2	0,90	0,82	[528]
6-Ф сфоглюконат—дегидрогеназа	2	0,96	0,92	[484]
Аденозиндезаминаза	2	0,88	0,79	[603]
Для всех 8 ферментов	—	0,018	0,005	

Из этих общих рассуждений можно вывести одно важное следствие: ясно, что степень индивидуальных различий в ферментном и вообще в белковом составе у людей может быть весьма значительной. Общее представление о степени такого разнообразия можно получить, рассмотрев и сопоставив данные о полиморфизме белков, уже обнаруженных в какой-либо одной популяции. Соответствующие данные, касающиеся 8 различных ферментов, для которых среди европейцев отмечается полиморфизм, приведены в табл. 33. Поскольку несколько различных фенотипов, соответствующих каждому из этих случаев полиморфизма, очевидно, встречаются независимо один от другого, ясно, что в данной популяции возможно очень большое число комбинаций различных фенотипов. Сопоставляя величины, приведенные в третьем столбце этой таблицы, мы приходим к выводу, что наиболее обычная комбинация будет обнаружена всего лишь примерно у 1,8% данной популяции. Далее, данные, представленные в чет-

вертом столбце, позволяют сделать следующий расчет: вероятность того, что два взятых наугад представителя одной популяции будут иметь одинаковую комбинацию фенотипов, будет составлять приблизительно 1:200. Таким образом, довольно высокую степень индивидуальных различий, касающихся белкового состава, удастся четко показать уже на очень ограниченном числе примеров. Это, несомненно, лишь начало, и есть все основания полагать, что при дальнейшем исследовании вполне может оказаться, что каждый индивидуум обладает уникальным набором ферментов и вообще уникальной белковой конституцией. Продолжая эту мысль далее, можно полагать, что такая уникальность каждого индивидуума по ферментному и белковому составу многообразными путями отражается на его физических, физиологических и других особенностях.

III. РЕДКИЕ ВАРИАНТЫ

Наряду с относительно распространенными аллелями, обуславливающими так называемый полиморфизм, в ходе обследований населения было найдено также значительное число редких аллелей, определяющих различные редкие варианты данных ферментов и прочих белков. Так, в ходе электрофоретического обследования выборок, насчитывающих по несколько тысяч индивидуумов, были выявлены многочисленные редкие аллели локусов, определяющих структуру фосфоглюкомутазы (стр. 60—62), лактатдегидрогеназы (стр. 55—56), щелочной фосфатазы плаценты (стр. 44—46), пептидазы А (стр. 43—44), фосфогексоизомеразы [138], пептидазы В [383], 6-фосфоглюконат — дегидрогеназы [484] и карбоангидразы [629]. Столь же значительное многообразие редких аллелей было обнаружено также для ряда неферментных белков, таких, например, как трансферрин [194], сывороточный альбумин [679] и сывороточный ингибитор α_1 -трипсина [164]. Можно привести еще много примеров редких вариантов других ферментных и прочих белков, обнаруженных в ходе обычных исследований. Становится совершенно очевидным, что если тот или иной белок исследовать у нескольких тысяч индивидуумов с помощью методов, обладающих достаточно высоким разрешением, то мы обязательно обнаружим один или несколько вариантов белка, контролируемых редкими аллелями того или иного генного локуса (или локусов). Читатель уже познакомился с этим общим явлением на примере редких вариантов гемоглобина и Г-6-ФД.

Таким образом, присутствие большого числа редких аллелей во многих различных генных локусах, по-видимому, является характерной чертой популяций человека. Эти аллели представляют собой обширный фонд наследственной изменчивости, и хотя отдельные составляющие чрезвычайно редки, но все вместе они

могут обусловить значительную степень разнообразия представителей той или иной популяции. Можно полагать, что с помощью методов (главным образом электрофоретических), применяемых до настоящего времени при обследованиях населения, удастся выявить лишь часть всех структурных вариантов данного белка. Поэтому вполне разумно допустить, что если рассматривать какой-либо определенный локус, то в среднем 1 человек из 500 может быть гетерозиготным по тому или иному из редких аллелей этого локуса. Отсюда следует, что каждый отдельный индивидуум может быть носителем немалого числа таких редких аллелей (100 или более) разных генных локусов.

Поскольку все эти аллели очень редки, измененные формы белка, которые они контролируют, в большинстве случаев обнаружены только у гетерозигот. В подавляющем большинстве случаев такие гетерозиготы, по-видимому, вполне здоровы, так что присутствие вариантных форм белка, видимо, не сопровождается какими-либо заметными неблагоприятными эффектами. Однако в небольшом числе случаев было показано, что у гетерозигот развивается то или иное характерное заболевание. В качестве примера можно привести случай редких аллелей, определяющих образование нестойких форм гемоглобина (стр. 37—38). Кроме того, существуют редкие структурные варианты, ничем не проявляющиеся у гетерозигот, но вызывающие определенные типы клинических нарушений в гомозиготном состоянии. Таким образом, мутантные аллели, которые, по-видимому, ответственны за многие редкие наследственные заболевания, представляют собой лишь часть большого класса редких аллелей, очевидно повсеместно распространенных в популяциях человека.

IV. МУТАЦИИ, ОТБОР И ДРЕЙФ ГЕНОВ

Распространение и частоту вариантных белков в разных популяциях человека можно рассматривать как результат трех различных процессов, происходивших в многочисленных предшествующих поколениях:

1. Мутационный процесс, вызывающий появление новых аллелей в общем случайным, незакономерным образом.

2. Естественный отбор, стремящийся к устранению таких аллелей, которые снижают биологическую приспособленность их носителей, и способствующий распространению аллелей, которые повышают приспособленность. Приспособленность в этом смысле может быть выражена вкладом индивидуумов разных генотипов в следующее поколение. Так, например, индивидуумы данного генотипа будут в среднем менее приспособленными, если они чаще умирают в раннем возрасте и следовательно меньшее их число достигает половой зрелости и оставляет потомство, или же если их плодовитость по тем или иным причинам снижена. Вообще влияние того или иного аллеля на приспособленность

может быть различным в зависимости от того, находится ли он в гетерозиготном или в гомозиготном состоянии. Важно поэтому отметить, что аллели, которые встречаются в данной популяции относительно редко, присутствуют главным образом у гетерозигот.

3. Случайные эффекты или генетико-автоматические процессы (дрейф генов), обусловленные случайностью факторов, определяющих то, какие из гамет (сперматозоидов и яйцеклеток), производимых представителями данного поколения, оставят потомство и тем самым примут участие в создании нового поколения.

Теоретически в любом генном локусе в результате отдельных мутационных актов может появиться очень большое число различных аллелей. Так, в типичном генном локусе, представляющем собой отрезок ДНК, скажем, из 900 пар нуклеотидов и кодирующем полипептидную цепь из 300 аминокислот, число различных аллелей, которые могут возникнуть в результате замены одного основания, составляет 2700 (каждое основание в данной последовательности может быть заменено любым из трех других). Вследствие вырожденности кода примерно у 20—25% всех таких мутантов изменения в структуре данного полипептида может не произойти. Приблизительно в 2—4% случаев будет происходить мутация, вызывающая превращение триплета оснований, кодирующего какую-либо аминокислоту, в триплет, кодирующий терминацию цепи, так что мутантный аллель приведет к синтезу укороченного (с карбоксильного конца) полипептида, утратившего большую или меньшую часть аминокислотной последовательности. В большинстве случаев такая мутация, вероятно, приведет к полному нарушению структуры белка. Однако приблизительно в 70—75% случаев мутантный аллель, в котором заменено какое-то одно основание, приведет к синтезу полипептида, отличающегося от исходного лишь тем, что одна-единственная из его аминокислот заменена на другую. Влияние такой мутации на свойства белка будет зависеть от положения этой аминокислоты в его трехмерной молекуле и от химических и физических свойств замещенной аминокислоты. Несомненно, возможны также другие мутации, связанные с более значительными изменениями последовательности ДНК в данном гене. Это могут быть делеции, дупликации или другие перестройки последовательности пар оснований. Часто возникающая в результате структура оказывается неспособной кодировать функционально активный белок, но все же в некоторых случаях такие жизнеспособные белки, по-видимому, могут образовываться, хотя их строение и резко изменено. Таким образом, в результате появления различных аллелей вследствие мутаций в одном и том же локусе может возникать множество измененных форм белков, нередко резко различающихся по своим свойствам и функциональной активности.

В последние годы мы многое узнали о том, каким образом структурная организация ферментных и прочих белков сказывается на их специфических свойствах и функциональной активности. Это стало возможным благодаря установлению трехмерной структуры многих из этих сложных макромолекул, сравнительным исследованиям первичной аминокислотной последовательности некоторых белков, например цитохрома *c* и гемоглобина у многих видов, а также исследованиям свойств мутантных белков с точно известным структурным изменением. Одно из заключений, к которому мы приходим на основании данных, полученных при этих исследованиях, состоит в следующем: значительная часть всех замен аминокислот, возможных для данного фермента или белка в результате единичных мутаций, может лишь очень незначительно отразиться на его функциональной активности или вовсе не сказаться на ней. Это обстоятельство, очевидно, имеет прямое отношение к объяснению ситуации, складывающейся в природных популяциях для различных в структурном отношении форм белков, с точки зрения популяционной генетики, поскольку из сказанного следует, что влияние некоторых мутантных аллелей на фенотипические свойства их носителей часто может быть ничтожно малым. Таким образом, в селективном отношении такие мутанты могут оказаться безразличными или почти безразличными (обсуждение этого вопроса и список литературы см. в работе [329]).

Разумеется, многие мутации могут привести к частичной или даже полной утрате биологической активности соответствующим белком. Вообще такие мутации, вызывающие структурные изменения, должны быть в той или иной степени неблагоприятными в отношении отбора для их носителей. Однако в гетерозиготном состоянии неблагоприятный эффект может проявиться, вероятно, лишь в очень небольшом числе случаев. Даже у гомозигот степень нарушений колеблется в весьма широких пределах в зависимости от степени изменений свойств белка и от той функциональной роли, которую играет данный белок в норме.

Можно полагать также, что иногда встречаются мутанты, которые обладают некоторыми селективными преимуществами, по крайней мере в данных условиях среды. Однако такие мутанты должны быть чрезвычайно редкими уже по одному тому, что любое случайное изменение в такой сложной структуре, какую представляет собой белок (если оно скажется на его функции), гораздо чаще может оказаться неблагоприятным, чем наоборот.

Однако совершенно независимо от того, является ли данная мутация относительно неблагоприятной и соответственно будет ли она устраняться в процессе естественного отбора или же она сообщает ее носителю какое-либо преимущество при отборе, которое будет способствовать ее распространению, для сохранения нового мутантного аллеля в поколениях имеются весьма серьезные препятствия. Новый аллель передается в среднем половине по-

гомков индивидуума, который впервые получил этот аллель. Таким образом, имеется определенная вероятность того, что этот аллель вообще не будет передан следующему поколению, а вероятность его утраты возрастает в ряду последующих поколений. Так, в достаточно большой стабильной популяции, в которой каждая пара родителей в среднем оставляет двух потомков, в свою очередь дающих потомство в следующем поколении, вероятность (учитывая только случайные эффекты) того, что новая мутация сохранится, например, через 15 поколений, составляет $1/9$ [173]. Вероятность сохранения мутации больше в том случае, если при ее появлении численность популяции возрастает, и меньше в противоположном случае. Вообще же большинство аллелей, возникающих заново, вероятно, устраняются на протяжении последующих 10 или 20 поколений в результате более или менее случайных событий.

Однако поскольку за счет мутаций постоянно возникают все новые и новые аллели, существует вероятность того, что в достаточно многочисленной популяции набор редких аллелей, определяемый более или менее случайно, будет, как правило, иным, чем в других популяциях. Райт [697] назвал это явление «полиаллельным случайным дрейфом». При этом возникает своего рода равновесие между появлением новых аллелей в результате мутаций и неизбежной случайной утерей некоторых из них, а также других, уже существовавших аллелей вследствие присущей данной популяции генетической структуры.

Рассматривая многочисленные варианты ферментов и белков, обнаруживаемые в популяциях человека, мы для удобства разделили их на две группы. В одну группу мы включили такие варианты, которые встречаются сравнительно часто и приводят к так называемому полиморфизму; они, по-видимому, составляют лишь небольшую долю всех действительно существующих вариантов. Другая группа представлена большим числом различных вариантов, которые в отдельности встречаются чрезвычайно редко, причем частота таких аллелей в большинстве случаев на два порядка или более ниже, чем частота обычных аллелей. Конечно, встречаются также варианты, определяемые аллелями, которые встречаются с промежуточной частотой. Однако в общем создается впечатление, что подразделение на «обычные» и «редкие» варианты отражает истинную биологическую дихотомию, а ни в коем случае не произвольное разделение двух крайних типов, соответствующих противоположным концам непрерывного распределения частот.

Общие признаки гетерогенной группы редких вариантов, которые обычно обнаруживаются при изучении данного фермента или другого белка в достаточно большой выборке из той или иной популяции, вероятно, легче всего объяснить на основании концепции полиаллельного случайного дрейфа. Вероятно, они пред-

ставляют собой довольно случайный набор мутаций, которым удалось сохраниться в данной популяции и состав которых совершенно случаен.

Если это так, то действительное число различных редких вариантов, имеющих в данной популяции, и общая их встречаемость будут определяться главным образом средней частотой мутаций, а также «эффективными размерами воспроизводства» данной популяции [328, 697]. Большинство таких вариантов в гетерозиготном состоянии, вероятно, нейтральны или почти нейтральны, и поэтому естественный отбор играет лишь незначительную роль в определении того, какие мутантные аллели сохраняются и какова будет их частота. Разумеется, некоторые мутации дают неблагоприятные эффекты у гетерозигот, и их частота будет в большей или меньшей мере ограничиваться отбором. Этот эффект особенно резко будет сказываться на таких мутантных аллелях, которые вызывают значительное снижение приспособленности в гетерозиготном состоянии, и среди аллелей, заново возникших в предыдущем поколении, именно эти аллели будут встречаться с большей частотой. Аллели, дающие неблагоприятные последствия только у гомозигот, будут в гораздо меньшей степени подвергаться отбору, а их частота и распределение в значительной мере будут зависеть от таких случайных факторов, как мутации и дрейф генов. Всем этим, вероятно, можно объяснить часто наблюдаемые весьма значительные различия между популяциями в отношении частоты некоторых редких «рецессивных» болезней.

V. ОТБОР И ЯВЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА

Обратимся теперь к группе аллелей, обуславливающих обычные виды полиморфизма и являющихся по существу главной причиной индивидуальных различий в структуре ферментных и других белков у человека. Здесь мы сталкиваемся с несколько иной ситуацией. Полиморфизм обусловлен, как правило, весьма ограниченным числом аллелей того или иного локуса; обычно это два или несколько аллелей, которые, по-видимому, представляют собой лишь очень небольшую долю общего числа аллелей, имеющих в данной популяции. Остальные аллели, как правило, встречаются крайне редко.

Обычно принято считать, что основным фактором, который определяет встречаемость аллелей, обуславливающих обычные виды полиморфизма, служит дифференциальный отбор: под этим подразумевается, что гетерозиготы, по данным аллелям имеющие или имели в прошлом некоторые преимущества при отборе по сравнению с соответствующими гомозиготами. Такое представление, несомненно, удовлетворительно объясняет в общих чертах биологическое разнообразие в пределах вида, которое мы обычно

приписываем действию естественного отбора. Следует, однако, признать, что прямые свидетельства в пользу этого представления пока крайне немногочисленны. Лучше всего документированный случай — полиморфизм по серповидноклеточности в Африке. Имеются также данные по географическому распространению, убедительно показывающие, что малярия может служить фактором отбора и в случае других обычных гемоглобинопатий, а также некоторых вариантов Г-6-ФД. Однако что касается множества остальных случаев полиморфизма, известных в настоящее время, то остается совершенно неясным, с какими факторами отбора они могли бы быть связаны.

Особая черта полиморфизма по гену серповидноклеточности — высокая частота этого гена, несмотря на весьма жесткий отбор в отношении аномальных гомозигот. Следовательно, селективное преимущество гетерозигот по гену серповидноклеточности должно быть весьма значительным; только в этом случае мог установиться и поддерживаться полиморфизм. В большинстве других случаев полиморфизма роль давления отбора, если оно на самом деле имеет значение, должна быть значительно менее выражена, и весьма возможно, что это давление настолько мало, что при помощи доступных нам методов его не удастся даже выявить. Выяснение природы возможных сил отбора, которые могут способствовать появлению различных видов полиморфизма, в настоящее время представляет собой одну из наиболее трудных и неподатливых общих проблем генетики человека.

Один из подходов к разрешению этого вопроса — прямое исследование функциональных свойств структурно различающихся форм «полиморфных» ферментов в надежде на то, что это может выявить существенные различия, которые могли бы иметь отношение к обмену веществ или как-то по-иному быть связанными с отбором в определенных условиях среды. Во многих случаях было установлено, что обычные структурные варианты того или иного фермента существенно различаются по активности. Однако до настоящего времени нам почти или совсем ничего не известно о значении таких различий для отбора, за исключением, может быть, случая Г-6-ФД, упомянутого выше. Очевидная трудность состоит в том, что отбор влияет, как правило, на сложный комплекс физиологических функций, зависящий от взаимодействия многих ферментов и других белков. Поэтому для данного индивидуума фенотипическое проявление всей совокупности ферментов и других белков может оказаться важнее, чем свойства какого-то одного из них.

Другой подход к этому вопросу состоит в выяснении того, связано ли присутствие данных аллелей с предрасположением к определенным заболеваниям, особенно к тем, которые встречаются часто. Общий метод, применяемый для этой цели, заключается в сравнении частоты изучаемого аллеля в группе лиц

с данным заболеванием с частотой этого аллеля в популяции в целом. Хорошо известным примером такого рода связей является определенная связь групп крови системы АВО с некоторыми заболеваниями желудочно-кишечного тракта (подробный обзор по этому вопросу см. в работе [410]). Так, у индивидуумов с группой крови А несколько чаще встречается рак желудка, чем у людей с группой крови О. В то же время у лиц с группой крови О чаще встречается язвенная болезнь, чем у лиц с группой крови А. Однако эти различия выражены весьма незначительно ■ медицина не располагает никакими указаниями на то, что обнаруженные связи могли бы послужить главной причиной столь широко распространенного полиморфизма в данном случае. Ничего не известно также о том, каким образом разные антигены групп крови или же те ферментативные особенности, которые, по-видимому, их обуславливают, влияют на предрасположение к названным заболеваниям. Причинные связи здесь весьма темны, и, кроме того, они, по-видимому, являются лишь косвенными. Вот почему на основании того, что мы знаем о характеристиках известных нам типов полиморфизма и об особенностях связанных с ними заболеваний, тут едва ли удастся вывести какую-то корреляцию. Возможно, так же точно обстоит дело и в других случаях полиморфизма, а поскольку это так, поиски причинных связей, вероятно, вообще дело необычайно сложное. Так, самые обычные заболевания, ■ том числе многие острые и хронические инфекции, теоретически могли бы сыграть существенную роль в появлении различных видов полиморфизма, и сейчас становится известным все больше случаев полиморфизма, которые имело бы смысл изучать на предмет выявления связи с такого рода заболеваниями. Однако, поскольку не существует никаких точных критериев для установления таких взаимосвязей в каждом конкретном случае, открытие действительно существенных взаимосвязей, по-видимому, должно происходить весьма случайным образом.

И, наконец, еще одно важное направление в исследовании этой проблемы — демографический подход. Он заключается в подразделении индивидуумов одной или многих популяций на группы по тем или иным распространенным аллельным различиям, а затем в поисках различий между ними по важнейшим параметрам, имеющим значение для отбора, например по показателям смертности и заболеваемости в различных возрастных группах и по плодовитости. При помощи анализа семей можно также изучать возможные отклонения от менделевского расщепления и т. п. Хотя данные такого рода позволяют составить лишь косвенное суждение о роли определенных факторов отбора в отношении данных видов полиморфизма, они дают в принципе возможность оценить масштабы влияния отбора в данных условиях среды. Однако сочетать в подобных обследованиях, с одной стороны, достаточно большие масштабы, чтобы можно было получить до-

стоверные результаты, а с другой стороны, детальность и точность в определении ряда демографических параметров — дело очень сложное. Хотя к настоящему времени собраны многочисленные наводящие на размышления данные, результаты даже наиболее сложных и остроумных обследований такого рода (см., например, [447, 466]) лишь подчеркнули значительные трудности получения однозначных решений в данной области.

Существенным источником такой неопределенности служит тот факт, что среда обитания человека в настоящее время или даже на протяжении нескольких последних поколений во многих отношениях сильно отличается от среды, в которой люди жили в прошлом. Особенно глубокие изменения происходили и происходят в таких важнейших параметрах, как величина и распределение по возрастным группам смертности и заболеваемости. Поэтому то, что могло быть важным фактором отбора в прошлом и вполне могло привести к формированию многих видов полиморфизма, встречающихся ■ настоящее время, теперь может иметь лишь второстепенное значение или не иметь его вовсе. Мы же в состоянии изучать эту неизбежно и постоянно изменяющуюся ситуацию лишь в течение очень короткого периода времени. Кроме того, мы, как правило, не знаем, как выяснить, отражает ли картина, наблюдаемая в каждом данном случае полиморфизма, некое состояние равновесия, установившееся как следствие селективного преимущества гетерозигот, или же мы имеем дело с продолжающимся увеличением частоты одного аллеля за счет другого, или же, наконец, с прогрессирующим исчезновением данного аллеля.

Главной альтернативой при решении вопроса о силах отбора, послуживших причиной данного вида полиморфизма, является предположение, что он возник случайно, в силу дрейфа генов. Очень редко частота того или иного аллеля, появившегося в популяции, может стать высокой исключительно за счет случайных факторов. Это более вероятно для малых и относительно изолированных популяций. Действительно, известен ряд случаев, когда аллели, определяющие особый вариант фермента или другого белка, встречаются с необычно высокой частотой в относительно малых и изолированных сообществах, тогда как в остальных популяциях эти аллели, по-видимому, отсутствуют или встречаются крайне редко. Большинство таких случаев весьма локального полиморфизма можно, вероятно, приписать случайному дрейфу. В качестве примера можно, вероятно, привести измененный вариант сывороточного альбумина, обнаруженный у 25% представителей одной из групп североамериканских индейцев [426], а также у представителей некоторых близких им племен. Этот вариант, по-видимому, не встречается больше нигде на земном шаре. В противном случае он был бы легко выявлен при помощи самых обычных методов. Другой пример — весьма высокая частота мол-

VI. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ

Современное положение в генетике. В настоящее время изучаются многие вопросы, связанные с генетикой. В настоящее время изучаются многие вопросы, связанные с генетикой. В настоящее время изучаются многие вопросы, связанные с генетикой.

чащего аллеля сывороточной холинэстеразы в одной группе эскимосов Аляски, о которой мы упоминали выше (стр. 127). Иногда бывает так, что небольшая группа представителей данной популяции переселяется в другое место и образует новое сообщество, которое в дальнейшем развивается более или менее изолированно. Если случайно один из основателей такого сообщества окажется носителем определенного редкого аллеля, то этот аллель может по чисто случайным причинам широко распространиться в такой вновь возникшей популяции. Ярким примером этого так называемого «эффекта основателя» может служить необычно высокая частота тирозинемии (стр. 282), наблюдаемая в изолированной группе франко-канадцев Квебека [357]. Это заболевание, обычно приводящее к смертельному исходу в раннем детстве, проявляется у гомозигот по аллелю, который в данной популяции встречается с очень высокой частотой (0,02), однако чрезвычайно редок в других районах земного шара. Изучение родословных указывает на то, что один из основателей этой популяции, иммигрант из Франции, вероятно, был гетерозиготным по данному аллелю.

Такие случайные факторы, как дрейф генов или же «эффект основателя», послужили, несомненно, главными причинами многих других видов локализованного полиморфизма. Они также сыграли важную роль в возникновении часто наблюдаемых различий между относительно изолированными популяциями. Однако, по-видимому, гораздо менее вероятно, чтобы один только дрейф генов послужил причиной полиморфизма, встречаемого в больших этнических группах, распространенных на целых материках или на большей их части, а в некоторых случаях и на всем земном шаре. Тем не менее случайные колебания частоты генов в популяции в прошлом, а также миграции групп индивидуумов из одного места в другое вполне могли обусловить многие наблюдаемые особенности распределения и частоты некоторых обычных аллелей в настоящее время.

VI. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Современное состояние вопроса в общих чертах можно подытожить следующим образом.

В настоящее время ясно, что в популяциях человека существует множество структурно различающихся форм ферментов и других белков. И столь велико число и многообразие индивидуальных различий, которые они обуславливают, что, по-видимому, крайне маловероятно, чтобы два индивидуума, за исключением монозиготных близнецов, имели совершенно идентичные наборы ферментов и других белков.

Такое разнообразие можно объяснить тем, что в большинстве локусов структурных генов может присутствовать много различных аллелей, которые можно в общем подразделить на две четко

разграниченные группы. Одна из них включает большое число аллелей, в большинстве своем чрезвычайно редких, частота и распределение которых в основном зависят от многократных мутаций и дрейфа генов. Многие из этих аллелей, вероятно, не имеют существенного значения для жизнеспособности и приспособленности их носителей, тогда как другие вызывают неблагоприятные эффекты либо в гетерозиготном, либо в гомозиготном состоянии и приводят к различным редким наследственным заболеваниям и другим аномалиям, обнаруженным в популяциях человека. Общая частота таких неблагоприятных мутантных аллелей, конечно, будет ограничиваться естественным отбором.

Другая группа, значительно менее обширная, включает аллели, которые встречаются гораздо чаще. Такие аллели являются основой большого разнообразия ферментов и различных видов полиморфизма, очевидно существующих в природе. Весьма возможно, что именно эти аллели и контролируют биохимические особенности, лежащие в основе многих наследственных различий в физических и физиологических особенностях индивидуумов, а также в относительном предрасположении к различным болезням. Однако мы пока, как правило, не имеем точного представления о том, каким образом это происходит в различных конкретных случаях. В частности, нам очень мало известно о биологических причинах, которые привели к установлению всех этих обычных полиморфных различий.

Недавно
[413] вклю
каждый из
ненного ге
явлениям
у новорож
только у в
неуклонно
гих отмеча
наследствен
шей степе
множество
все отрасл
список нас
роятно, на
вершено н
Обычно
того, насл
типу, а та
ного гена
мах (X и
аномалиях
стоящее
сомным д
Остальны
болевания
не устан
которое м
ван

ГЕННЫЕ МУТАЦИИ
И НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

Недавно опубликованный каталог наследственных аномалий [413] включает более тысячи различных клинических синдромов, каждый из которых может быть объяснен действием одного измененного гена. Эти аномалии широко варьируют по своим проявлениям и степени тяжести. Некоторые из них выявляются у новорожденных или в раннем детстве; другие проявляются только у взрослых — в среднем и пожилом возрасте. Некоторые неуклонно прогрессируют и ведут к летальному исходу; при других отмечаются лишь незначительные нарушения. Фактически наследственные заболевания могут поражать в большей или меньшей степени любой орган или ткань. Таким образом, все это множество разнообразных расстройств затрагивает по существу все отрасли медицины. Судя по темпам, с которыми пополняется список наследственных аномалий в медицинской литературе, вероятно, нам вскоре предстоит познакомиться со многими совершенно новыми заболеваниями этой группы.

Обычно такие заболевания классифицируют в зависимости от того, наследуются ли они по доминантному или рецессивному типу, а также в зависимости от локализации данного аномального гена в той или иной из 22 аутосом или же в половых хромосомах (X и Y); в последнем случае говорят о сцепленных с полом аномалиях. Среди наследственных заболеваний, известных в настоящее время, более половины могут быть отнесены к аутосомным доминантным и около 40% — к аутосомным рецессивным. Остальные (около 8%) — это главным образом рецессивные заболевания, сцепленные с X-хромосомой. До настоящего времени не установлено ни одного случая патологического состояния, которое можно было бы приписать аномальному гену, локализованному в Y-хромосоме.

Важная особенность так называемых аутосомных доминантных заболеваний — то, что практически все больные с явными клиническими симптомами гетерозиготны. В геноме таких гетерозигот присутствует одна доза аномального гена, который они получили от одного из родителей, и одна доза его нормального

аллеля, полученного от другого родителя. Вследствие того, что большинство аномальных генов, вызывающих такие доминантные заболевания, встречается редко, гомозиготы, как правило, не обнаруживаются. Следует, однако, ожидать, что в гомозиготном состоянии патологические проявления должны быть выражены значительно более резко, чем у пораженных гетерозигот, и весьма вероятен летальный исход в раннем детстве.

В случаях аутосомных рецессивных заболеваний индивидуумы с клиническими проявлениями часто гомозиготны и несут две дозы измененного гена, полученные по одной от каждого из родителей. Гетерозиготы, несущие одну дозу аномального гена и одну — нормального аллеля, в обычных условиях, по-видимому, вполне здоровы. Однако бывают случаи, когда в определенном генетическом локусе возможны два или более различных аномальных гена, дающих неодинаковые рецессивные нарушения в гомозиготном состоянии. У гетерозигот по двум таким аллелям обычно возникают нарушения, сходные с теми, которые характерны для двух соответствующих гомозиготных состояний, и если последние отличаются друг от друга по симптоматике или тяжести заболевания, то у такой «двойной» гетерозиготы обычно отмечаются промежуточные проявления. Хорошо известный пример такого рода — серповидноклеточность в сочетании с гемоглобином С.

При так называемых X-сцепленных рецессивных заболеваниях патологическое состояние проявляется клинически главным образом у мужчин, хотя у них имеется только одна X-хромосома. У женщин, имеющих две X-хромосомы, заболевание проявится лишь в том случае, если аномальный ген присутствует в обеих X-хромосомах. Если, как это часто бывает, измененный ген, вызывающий такое заболевание, встречается редко, то у женщины оно может вообще никогда не проявляться.

I. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Если общая теория, согласно которой гены проявляют свое действие, направляя синтез белков, в основных своих положениях верна, то для каждого из рассматриваемых заболеваний в принципе возможно проследить связь характерного сочетания клинических симптомов с определенным дефектом фермента или другого белка, вызываемым единичной генной мутацией. Полное описание патогенеза болезни должно было бы начинаться с изменения последовательности оснований ДНК, вызванного данной мутацией; далее, в нем должно быть отражено то, как это изменение извратило синтез определенного белка, каковы вторичные биохимические последствия этого извращения и, наконец, каким образом эти последние вызывают наблюдаемые патологические симптомы.

Для подавляющего большинства наследственных болезней такое полное описание пока неосуществимо. Характерные проявления того или иного заболевания, которые мы наблюдаем, часто возникают как следствие весьма сложной цепи событий, предполагающих взаимодействие биохимической и физиологической организации на разных уровнях. В настоящее время лишь относительно небольшое число заболеваний изучено до такой степени, что удастся проследить детали хотя бы некоторых этапов в этом ряду причин и следствий.

Пока ни для одной болезни не удалось установить первичные генетические нарушения, непосредственно изучая последовательность оснований аномального гена. Однако поскольку этот ген определяет измененный белок, который можно выделить, причем удается установить, в чем состоит нарушение в его структуре, нередко оказывается возможным сделать заключение о природе изменений ДНК, лежащих в его основе. Примеры такого рода рассмотрены при описании различных гемоглобинопатий (гл I). Так, например, при серповидноклеточной болезни все патологические сдвиги и клинические проявления можно объяснить синтезом аномального гемоглобина, ■ молекуле которого в β -цепи вместо глутаминовой кислоты в шестом положении находится валин. Поскольку нормальная β -цепь состоит из 146 аминокислот, а каждая аминокислота кодируется последовательностью из трех оснований в ДНК, мы можем заключить, что ген, определяющий эту полипептидную цепь, представляет собой участок ДНК длиной ■ 438 нуклеотидов и что мутация, вызвавшая появление аллеля серповидноклеточности, произошла в шестом триплете этой последовательности (основания №№ 16, 17, 18). Далее, учитывая то, что известно о генетическом коде и об общей природе мутаций, вызывающих единичные замены аминокислот, мы можем прийти к вполне логичному выводу, что в этом триплете изменено основание № 17 (аденин вместо тимина в одной из двух комплементарных цепей ДНК).

Аналогичным образом удалось сделать выводы относительно локализации первичного изменения ■ гене при других гемоглобинопатиях. В большинстве таких случаев имеет место единичное аминокислотное замещение в белке, и так же, как и при серповидноклеточности, мутацию обычно можно приписать изменению определенного основания. Однако ■ некоторых случаях были выявлены другие дефекты белков, по характеру которых можно было заключить, что мутационное изменение в структуре гена должно быть совсем иным. Так, например, в гемоглобинах Лепоре (стр. 91—93) аномальная полипептидная цепь в первой своей части идентична аминокислотной последовательности первой половины δ -цепи нормального гемоглобина A_2 , а далее имеет последовательность, характерную для концевой части нормальной β -цепи гемоглобина A. Проще всего объяснить эту аномалию,

предположив, что последовательность нуклеотидов, составляющая конечную часть гена δ -цепи и начальную часть прилежащего локуса β -цепи, оказалась утерянной. Поскольку измененная полипептидная цепь, определяемая новым геном, содержит 146 аминокислот, так же, как нормальная β - или δ -цепь, мы можем сделать заключение, что первичное генетическое нарушение состояло в выпадении (делеции) участка ДНК длиной по крайней мере в 438 нуклеотидов. Другие аномальные гемоглобины, характеризующиеся выпадением части полипептидной последовательности, — Hb-Фрейбург и Hb-Ган-Хилл (стр. 98—99). В первом из них отсутствует 1 аминокислота в β -цепи, а в последнем выпала последовательность из 5 аминокислот, что указывает на делецию 15 оснований.

Таким образом, аномальные гены, вызывающие заболевание, могут быть результатом разных мутаций. О природе события (или событий), которое может вызывать замену одного основания, известно очень мало. Что касается делеций, то они могут, вероятно, возникать по крайней мере двумя путями. Один из них — неравный кроссинговер между гомологичными хромосомами вследствие неправильной их конъюгации во время мейоза. Скорее всего именно таков механизм делеций, обусловивших появление гемоглобинов Лепоре, а возможно и некоторых других известных гемоглобинов с выпадением участка молекулы. Вероятность неравного кроссинговера особенно велика, если в результате предшествующей дупликации генетического материала два сходных участка последовательности ДНК прилегают друг к другу в одной и той же хромосоме. Чем протяженнее гомологичные участки, тем более вероятна абберрантная конъюгация. Таким образом, можно полагать, что для некоторых генов вероятность мутаций такого типа больше, чем для других. Еще один путь возникновения делеций заключается в случайном разрыве двух хромосом (или хроматид), происходящем более или менее одновременно и сопровождающемся неправильным воссоединением, вследствие чего промежуточный сегмент выпадает, если разрыв произошел в одной и той же хромосоме; если же разрывы происходят в разных хромосомах, то произойдет транслокация генетического материала из одной хромосомы в другую, сопровождаемая выпадением некоторой его части.

Данные, полученные при исследованиях структуры аномальных гемоглобинов, показывают, что к патологии могут приводить как мутации, связанные с заменой одного основания, так и мутации, обусловленные делецией; вероятно, так же обстоит дело с другими белками, в частности с ферментами. Однако оценить относительную роль различных типов мутаций в качестве причин многочисленных наследственных заболеваний, известных в настоящее время, не представляется возможным. Все имеющиеся данные получены при изучении таких случаев, когда аномальный

белок удаётся
ношении. Одна
очень незначи
заболеваний в
(например, та
себе не позвол
тельно природ
случаях для то
димо более гл
го синтеза, а
В тех случа
ский аномальн
представляет ва
левания. Так,
важным оказыва
на в восстановле
изменением очен
кулы вследствие
кислоты на гидр
следующее. Изве
в различных част
ние его раство
именно для дан
служит причиной
щенных в услови
так называемый
же деформация
носной системы,
рах, что приводит
редь может вызв
ни. Кроме того,
разрушаются, чт
другие патологи
частности все е
главную послед
синдром серпови
изменение затра
ного гена, одна
небольшим изме
тате которого
этого факта
возникает слож
Одно из физ
венно повлиять
стабильность. Е
ниже по сравне
турации in vivo
17—843

белок удастся изолировать и охарактеризовать в структурном отношении. Однако возможно, что такие случаи составляют лишь очень незначительную и притом нетипичную часть наследственных заболеваний в целом. Даже для некоторых гемоглобинопатий (например, талассемии) исследование структуры белка само по себе не позволяет еще сделать определенных заключений относительно природы мутационного изменения в ДНК. Видимо, в этих случаях для того, чтобы лучше понять характер мутаций, необходимо более глубокое изучение нарушений в механизмах белкового синтеза, а также структурные исследования на уровне РНК.

В тех случаях, когда удастся идентифицировать специфический аномальный белок, анализ его физико-химических свойств представляет важный этап выяснения патогенеза данного заболевания. Так, например, при серповидноклеточности крайне важным оказывается резкое снижение растворимости гемоглобина в восстановленном состоянии. Как полагают, оно обусловлено изменением очень небольшой части поверхности белковой молекулы вследствие замены гидрофильного остатка глутаминовой кислоты на гидрофобный остаток валина (стр. 32). Поразительно следующее. Известно много других аминокислотных замещений в различных частях молекулы гемоглобина, однако резкое изменение его растворимости при серповидноклеточности уникально именно для данного замещения. Это изменение растворимости служит причиной морфологических изменений эритроцитов, помещенных в условия низкого парциального давления кислорода, — так называемый феномен серповидноклеточности. *In vivo* такая же деформация эритроцитов происходит в венозной части кровеносной системы, в частности в мелких венах и венозных капиллярах, что приводит к повышению вязкости крови. Это в свою очередь может вызвать локализованный тромбоз и повреждение тканей. Кроме того, деформированные эритроциты значительно легче разрушаются, что приводит к хронической анемии и вызывает другие патологические изменения. Таким образом, хотя многие частности все еще остаются неясными, можно представить себе главную последовательность событий, вызывающих клинический синдром серповидноклеточной анемии. Первоначальное мутационное изменение затрагивает лишь очень небольшой участок ДНК данного гена, однако последствия его далее усиливаются сначала небольшим изменением тонкой структуры гемоглобина, в результате которого снижается его растворимость, а затем влиянием этого факта на циркулирующие эритроциты, вследствие чего возникает сложный комплекс патологических изменений.

Одно из физических свойств белка, на которое может существенно повлиять самая незначительная модификация структуры, — стабильность. Если стабильность аномального белка значительно ниже по сравнению с нормальным белком, то скорость его денатурации *in vivo* должна резко возрасти, а вызываемая этим по-

теря функциональной активности может иметь серьезные последствия. Так, например, было показано, что некоторые наследственные формы тяжелой хронической анемии связаны с присутствием измененных вариантов гемоглобина, отличающихся по преимуществу нестабильностью (стр. 37—38). Такие нестабильные гемоглобины гораздо быстрее денатурируют в эритроцитах, чем нормальный гемоглобин, и именно это, очевидно, является главной причиной наблюдаемых в таких случаях различных патологических явлений. Некоторые аномальные ферменты, например вариант глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы Gd-Средиземноморский (стр. 135—139), также отличаются пониженной устойчивостью, и вторичные биохимические и клинические нарушения, наблюдаемые у его носителей, опять-таки могут в значительной мере зависеть от этого обстоятельства. Вероятно, многие другие наследственные нарушения имеют в своей основе аналогичные причины.

По-видимому, любое изменение первичной структуры белка, приводящее к существенному нарушению его нормальной трехмерной конформации, может привести к снижению стабильности. В тех случаях, когда происходит единичное аминокислотное замещение, степень такого эффекта будет зависеть от химических свойств и размеров замещаемого аминокислотного остатка, а также от места замещения. При этом самые различные замещения, происходящие в разных участках белковой молекулы, могут, как выяснилось, привести в основном к одним и тем же последствиям в отношении стабильности данного белка и таким образом вызвать одинаковые патологические процессы. Следовательно, разные мутации могут вызвать группу определенных расстройств, которые, однако, во всех отношениях кроме первичной структуры аномального белка будут неотличимы одна от другой. Можно также отметить, что различные небольшие делеции в гене, вызывающие выпадение одной или нескольких аминокислот и, следовательно, укорочение полипептидной цепи, могут обусловить в каждом случае значительное нарушение трехмерной структуры, выражающееся в резком снижении стабильности соответствующего белка. Делеции большего размера, вызывая еще большее укорочение полипептида, часто могут привести к тому, что данный белок вообще будет отсутствовать. Аналогичные эффекты возможны и в результате мутаций, заключающихся в замене одного основания, приводящей к превращению триплета, кодирующего ту или иную аминокислоту, в триплет, кодирующий терминацию цепи.

При изучении свойств аномального ферментного белка несомненный интерес представляет исследование кинетики соответствующей ферментативной реакции. Так, например, важным фактором в развитии заболевания может быть изменение в сродстве ферментного белка к субстрату или к коферменту, что отразится

на кинетике. Примером такого рода служит изменение кинетики аргининосукцинатсинтетазы при цитруллинемии (стр. 168—170), «атипичной» формы сывороточной холинэстеразы при чувствительности к суксаметонию (стр. 121—126) и варианта Gd-Оклахома глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы, вызывающего особую форму хронической гемолитической анемии (стр. 138—139). Во всех этих случаях оказалось, что константы Михаэлиса (K_m) с субстратом значительно превышают нормальные значения, и этого, по-видимому, достаточно для того, чтобы объяснить патологические явления, характерные для данных заболеваний.

Можно ожидать, что многие единичные аминокислотные замещения в ферментном белке так или иначе отразятся на его кинетических параметрах, вызывая изменения либо в конформации, либо в химической структуре активного центра. Такие же замещения могут привести также к изменению других химических свойств ферментного белка, например его стабильности. Совершенно очевидно, что оценка относительной роли этих изменений может оказаться важной для выяснения патологии того или иного заболевания. Интересно в связи с этим рассмотреть вариант Gd-Средиземноморский глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы. Хотя структурные изменения в этом аномальном ферментном белке в деталях еще не известны, выяснены, однако, некоторые существенные отличия в его свойствах от нормального фермента. Он значительно менее стабилен, константы Михаэлиса как для субстрата (глюкозо-6-фосфата), так и для кофермента (НАДФ) у него ниже и, кроме того, он более эффективно использует аналог субстрата 2-дезоксиглюкозо-6-фосфат. Клиническое нарушение, связанное с этим аномальным ферментом, — фавизм — почти наверняка обусловлено очень низким уровнем активности фермента в измененных эритроцитах, и это последнее обстоятельство зависит главным образом от выраженной нестойкости ферментного белка. Измененная же кинетика играет, вероятно, лишь второстепенную роль или не имеет никакого значения в развитии данной патологии, тем более, что пониженные константы Михаэлиса для субстрата и кофермента должны быть связаны с повышенной активностью.

Разные мутации могут привести к недостаточности того или иного определенного фермента, вызывая либо синтез аномального ферментного белка с измененной кинетикой или стабильностью, либо понижение скорости синтеза ферментного белка, либо прекращение синтеза вообще. Для многих наследственных заболеваний удалось даже точно установить фермент, недостаточность которого играет центральную роль в развитии патологии, хотя в большинстве случаев истинная молекулярная основа ферментной аномалии остается неясной. Эти заболевания относят обычно к категории «врожденных нарушений обмена», однако в принципе к ним следует относить любую наследственную бо-

лезнь. Однако по причинам исторического порядка такое разделение сохранилось. Различные примеры таких заболеваний рассматривались выше (стр. 151), другие приведены в приложении I.

Известен еще один, необычный вид биохимических нарушений, для которых характерно аномально высокое содержание некоторых веществ в жидкостях организма или клетках при относительной недостаточности других веществ. То, каковы эти изменения, зависит от функции данного фермента в нормальном обмене веществ и от его локализации в тканях. Степень же их, а в какой-то мере и их распределение зависят от того, насколько понижена ферментативная активность. При некоторых заболеваниях активность может вообще отсутствовать, тогда как при других она только в большей или меньшей степени снижена.

Клиническая картина, наблюдаемая при этих метаболических аномалиях, вероятно, представляет собой вторичный результат нарушения биохимических процессов, обусловленного недостаточностью определенного фермента. Однако существо причинных взаимоотношений в таких случаях часто бывает трудно выяснить. Приведем в качестве примера фенилкетонурию (стр. 155—158). Это заболевание хорошо изучено, и в настоящее время удалось многое выяснить относительно характера метаболических нарушений и изменения концентраций ряда метаболитов при фенилкетонурии, однако до сих пор невозможно удовлетворительно объяснить, почему наиболее характерным симптомом этого заболевания является резко выраженная умственная отсталость. Очевидно, при данном биохимическом нарушении каким-то образом повреждаются нейроны развивающегося мозга. Однако суть этого процесса все еще не ясна.

Пожалуй, следует еще раз затронуть вопрос о том, насколько неожиданной часто бывает связь между клиническими синдромами и биохимическими нарушениями, которые лежат в их основе. Хорошим примером подобной ситуации служит заболевание, известное под названием гомоцистинурии (стр. 283). Клинический синдром при этом нарушении обмена очень сложен, и в числе характерных симптомов отмечаются такие весьма различные проявления, как умственная отсталость, эктопия хрусталика, склонность к артериальным и венозным тромбозам и аномалии развития костей. При систематическом обследовании большой группы больных с умственной отсталостью (определялось содержание в моче аминокислот) было обнаружено характерное повышение уровня гомоцистина в моче. Это открытие привело к обнаружению выраженного нарушения обмена метионина, обусловленного недостаточностью фермента цистатионинсинтетазы (L-сериндегидрогеназы). Несмотря на то что метаболический путь превращения метионина в цистин был подробно изучен еще до открытия гомоцистинурии, биохимики вряд ли смогли бы предсказать, что нарушение этого метаболического пути может

вызвать тот
наблюдается
сомнений, что
то образом свя
тетазы, мы все
причинная свя

Другой при
выяснено, что
накопление гл
Однако, несмо
гликогена были
занные с ними
жащих в основ
того, что это за
ностью α -(1,4)
с другими гид
ваемых лизосо
поскольку пре
сколько-нибудь

На этих пр
очень много та
вершенно неизв
ностью которых
рым связаны эт
роятно, содержа
в большинстве
еще никому не у
химические сист

II. ДОМИНАНТНО

По мере все
патологию того
и о характере е
оно должно вст
стоянии, т. е.
проявляться тол
относиться к ре
Иллюстрируе
болезни, наследу
шения, характер
гемоглобин, нахо
ворим, когда он
рактарная дефо
в тех частях кро
у гетерозигот по

вызвать тот комплекс патологических проявлений, который наблюдается при этом заболевании. Хотя почти не вызывает сомнений, что возникновение этих клинических симптомов каким-то образом связано с первичной недостаточностью цистатионинсинтетазы, мы все же не знаем, какова в данном случае конкретная причинная связь.

Другой пример — болезнь Помпе (стр. 175). Уже давно было выяснено, что при этом заболевании происходит прогрессирующее накопление гликогена в разных тканях, особенно в миокарде. Однако, несмотря на то что основные пути синтеза и распада гликогена были, по-видимому, установлены и были изучены связанные с ними ферменты, существо химических процессов, лежащих в основе болезни Помпе, оставалось неясным. Открытие того, что это заболевание обусловлено специфической недостаточностью α -(1,4)-глюкозидазы, присутствующей в норме вместе с другими гидролазами во внутриклеточных органеллах, называемых лизосомами, оказалось совершенной неожиданностью, поскольку прежде никто не думал, что этот фермент играет сколько-нибудь существенную роль в распаде гликогена.

На этих примерах мы убеждаемся в том, что имеется еще очень много таких наследственных нарушений, для которых совершенно неизвестны ферменты (или другие белки), недостаточностью которых они вызваны, или даже участок обмена, с которым связаны эти ферменты. Ключ ко всем этим проблемам, вероятно, содержится во всей симптоматике заболевания, однако в большинстве случаев мы не умеем его находить, и до сих пор еще никому не удавалось на этой основе понять, какие именно биохимические системы следует изучать в каждом конкретном случае.

II. ДОМИНАНТНОСТЬ И РЕЦЕССИВНОСТЬ

По мере все более глубокого проникновения в молекулярную патологию того или иного заболевания мы все больше узнаем и о характере его наследования и, следовательно, о том, почему оно должно встречаться преимущественно в гетерозиготном состоянии, т. е. наследоваться по доминантному типу, или же проявляться только в гомозиготном состоянии и таким образом относиться к рецессивным болезням.

Иллюстрируем сказанное на примере серповидноклеточной болезни, наследуемой по рецессивному типу. Клинические нарушения, характерные для этого заболевания, обусловлены тем, что гемоглобин, находящийся в эритроцитах, чрезвычайно плохо растворим, когда он теряет кислород; в результате происходит характерная деформация эритроцитов (серповидность) *in vivo* в тех частях кровяного русла, где давление кислорода понижено. У гетерозигот по гену серповидноклеточности около 65% гемогло-

бина, находящегося в эритроцитах, обычно приходится на нормальную его форму, и всего около 35% — на измененную. При этом общее количество гемоглобина на клетку остается почти нормальным. Смесь обеих форм гемоглобина в целом обладает пониженной растворимостью по сравнению с нормальным гемоглобином, и серповидноклеточность эритроцитов можно легко продемонстрировать *in vitro*, понизив в достаточной степени напряжение кислорода. Однако необходимая степень снижения напряжения кислорода в этих условиях превышает ту, которая в норме имеет место *in vivo*, и потому неблагоприятные последствия у гетерозигот обычно не встречаются, так что они в общем вполне здоровы.

Отсюда следует одно важное обстоятельство, а именно, термины «доминантный» и «рецессивный», вообще говоря, имеют смысл только в отношении определенного признака или фенотипа. Серповидноклеточная болезнь наследуется как рецессивный признак; однако сам феномен серповидноклеточности, т. е. характерная деформация эритроцитов при соответствующей обработке *in vitro*, наследуется как доминантный признак, поскольку он встречается как у гетерозигот, так и у гомозигот по аномальному гену.

Теперь сравним «рецессивную» серповидноклеточную болезнь с наследуемыми по доминантному типу формами хронической анемии, обусловленными так называемыми нестабильными гемоглобинами. При этих анемиях в эритроцитах гетерозигот синтезируется как нестабильный, так и нормальный гемоглобин. Однако из-за быстрой денатурации нестабильной формы количество ее, а следовательно, и общее количество гемоглобина, находящегося в функционально активном состоянии, в процессе созревания эритроцитов снижается. В результате возникает хроническая анемия, которая далее осложняется в связи с осаждением денатурированного аномального гемоглобина, что способствует ускоренному разрушению эритроцитов и удалению их из кровотока. Таким образом, в противоположность тому, что наблюдается у гетерозигот по гену серповидноклеточности, нормальный гемоглобин, синтезируемый такими гетерозиготами, не способен компенсировать неблагоприятное воздействие аномальной формы гемоглобина на эритроциты. Гены, определяющие различные варианты нестабильного гемоглобина, встречаются чрезвычайно редко, поэтому соответствующие гомозиготы не наблюдались. Можно, однако, предвидеть, что в гомозиготном состоянии эти гены должны вызывать крайне тяжелые формы анемии, часто сопровождающиеся смертельным исходом в раннем детстве.

Вопрос о том, наследуется ли данное заболевание, вызываемое недостаточностью какого-либо определенного фермента, по рецессивному или доминантному типу, может в значительной мере зависеть от среднего уровня активности данного фермента у гомозигот по нормальному аллелю и в особенности от того,

III. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ НАСЛЕДУЕМОГО ПРИЗНАКА

Очень часто оказывалось, что наследование некоторых заболеваний считали самостоятельными, хотя они являются следствием одной и той же мутации. Степень генетической гетерогенности для заболевания может быть различной, что обусловлено тем, что один и тот же ген может вызывать различные клинические проявления, а также то, что один и тот же фермент может участвовать в нескольких биохимических процессах.

каков в норме его избыток по сравнению с минимальным уровнем, необходимым для поддержания функции. В гетерозиготном состоянии уровень определенного фермента обычно является промежуточным между нормальным и тем, который отмечается у гомозигот по аналогичному гену. В крайних случаях, когда аномальный ген вызывает полное исчезновение ферментативной активности, у гетерозигот обычно обнаруживается примерно половина средней активности, характерной для гомозигот по нормальному гену. Если, как это, по-видимому, обычно бывает, уровень активности у гомозигот по нормальному аллелю в среднем во много раз превышает минимум, необходимый для нормальной метаболической функции, то пониженная активность, отмечаемая у гетерозигот, также оказывается до некоторой степени избыточной и не вызывает неблагоприятных последствий. Клинические нарушения проявятся поэтому только у гомозигот по аномальному гену, у которых активность, вероятно, снижена настолько, что оказывается недостаточной для поддержания нормальной функции. В действительности, большинство так называемых врожденных нарушений обмена, выявленных до настоящего времени, наследуется по рецессивному типу, и можно сделать вывод, что в норме уровень соответствующих ферментов значительно превышает критический (т. е. минимальный уровень, необходимый для поддержания нормальной функции). Таким образом, имеется как бы значительный «запас прочности».

Доминантный тип наследования заболеваний, обусловленных ферментной недостаточностью, наиболее вероятен в тех случаях, когда данный фермент лимитирует скорость метаболического пути, в котором он принимает участие: уровень активности таких ферментов в норме вообще близок к минимуму, необходимому для поддержания нормальной функции.

III. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Очень часто оказывалось, что синдром, который первоначально считали самостоятельной нозологической единицей, обусловленной одним аномальным геном, на самом деле есть не что иное, как целая группа разных заболеваний, возникающих как следствие различных мутаций и имеющих каждое свой особый патогенез. Степень генетической гетерогенности, которая может выявиться для заболеваний, на первый взгляд кажущихся моноэтиологическими, может быть весьма значительной, и, по-видимому, не остается сомнений, что такая гетерогенность представляет собой широко распространенное явление.

То обстоятельство, что несколько совершенно различных аномальных генов часто имеют весьма сходное или даже идентичное клиническое проявление, неудивительно. Утрата функции того или иного из ферментов, участвующих в одном и том же метаболиче-

ском пути, или же таких ферментов, которые связаны друг с другом ■ сложных физиологических взаимоотношениях, естественно, может дать одинаковые или весьма сходные конечные результаты на клиническом уровне. Таким образом, самые разные аномальные гены, влияя на различные ферменты, могут привести к весьма сходным клиническим последствиям. Далее, уменьшение активности данного ферментного или другого белка может быть вызвано изменением структуры различных полипептидных цепей, кодируемых разными генными локусами, или же может быть следствием мутации в каком-либо локусе, специфически связанном с регуляцией скорости синтеза данного белка. Наконец, разные мутации могут происходить в одном и том же локусе, и хотя они по-разному изменяют структуру соответствующей полипептидной цепи, в каждом случае эти изменения могут привести к утрате определенной функции и, следовательно, к весьма сходным клиническим проявлениям. Таким образом, одна и та же клиническая картина в действительности может быть обусловлена мутациями в нескольких различных локусах или же в одном локусе.

Врожденная метгемоглобинемия (стр. 33—36) представляет собой хорошо изученный случай, иллюстрирующий подобную ситуацию. Характерное клиническое проявление этого редкого синдрома — резкий цианоз, обусловленный тем, что значительная часть железа гемоглобина в эритроцитах и циркулирующей крови находится ■ трехвалентном состоянии и неспособна переносить кислород. Метгемоглобинемия проявляется при рождении или в самом раннем детстве и остается на протяжении всей жизни без существенных колебаний. У большинства пораженных не отмечается никаких тяжелых клинических проявлений, хотя иногда эта аномалия бывает связана с некоторой степенью умственной отсталости. Врожденную метгемоглобинемию следует отличать от других причин хронического цианоза, таких, например, как врожденные пороки сердца, что, однако, обычно легко удается при клиническом обследовании.

Уже первые исследования этого заболевания показали, что на генетическом уровне аномалия встречается в двух формах [30, 269]. В некоторых случаях это нарушение наследуется, по-видимому, по аутосомно-рецессивному, а ■ других — по аутосомно-доминантному типу. При рецессивной форме была обнаружена специфическая сильно выраженная недостаточность метгемоглобинредуктазы эритроцитов [197, 564]. У пораженных индивидуумов активность этого фермента была очень низкой, а часто ее едва удавалось определить. У их родителей, детей и других родственников, которых можно было считать гетерозиготными по соответствующему гену, уровень активности этого фермента был частично снижен [562], однако степень подавления активности, очевидно, была недостаточной для того, чтобы привести к выраженной

метгемоглобинемии или цианозу. Данные электрофоретического исследования остаточной ферментативной активности у некоторых больных указывают на то, что по крайней мере в некоторых случаях причиной ферментной недостаточности может быть изменение структуры ферментного белка, причем это изменение не одинаково у больных из разных семей [320, 683]. Таким образом, в генном локусе (или локусах), кодирующем метгемоглобинредуктазу, вероятно, может встречаться несколько различных аномальных аллелей, способных вызывать это заболевание.

При доминантной форме активность метгемоглобинредуктазы не отличается от нормы. В большинстве таких случаев оказывается измененной структура самого гемоглобина, причем выявлен целый ряд различных отклонений от нормы. Каждое из них связано с заменой одной определенной аминокислоты, происходящей в той области молекулы, где к полипептидной цепи присоединена группа гема. При этом могут быть затронуты как α -, так и β -цепи, которые, конечно, кодируются разными генными локусами. Установлено, что в случаях мутаций по α -цепи цианоз отмечается с момента рождения, поскольку α -цепь содержится как в эмбриональном ($\alpha_2\gamma_2$), так и во взрослом ($\alpha_2\beta_2$) гемоглобине, тогда как у мутантов по β -цепи цианоз появляется через несколько недель после рождения, когда взрослый гемоглобин становится преобладающим.

Таким образом, синдром врожденной метгемоглобинемии может быть обусловлен мутациями по крайней мере в трех различных генных локусах. Один из них определяет структуру метгемоглобинредуктазы, тогда как другие кодируют α - и β -цепи гемоглобина, причем в каждом из этих локусов, очевидно, может присутствовать несколько различных аномальных аллелей, вызывающих этот синдром. Имеется сообщение еще об одной форме врожденной метгемоглобинемии, которая наследуется, по-видимому, как аутосомно-доминантное заболевание, но не связана с какими-либо изменениями ни в гемоглобине, ни в метгемоглобинредуктазе [638]; следовательно, такое же клиническое нарушение может быть вызвано также мутациями в других генных локусах помимо трех названных.

Врожденная метгемоглобинемия — чрезвычайно редкое заболевание; в большинстве популяций она встречается не чаще, чем у одного из нескольких сот тысяч новорожденных. Однако уже выявлено не менее 8 различных аномальных генов, вызывающих это заболевание, причем синдромы, которые каждый из них вызывает, трудно, а то и невозможно различить только по клиническим проявлениям. Можно полагать, что такая же степень генетической гетерогенности будет обнаружена для многих других наследственных заболеваний, которые в настоящее время описаны только клинически или, самое большее, на уровне некоторых вторичных биохимических или физиологических нарушений, обу-

словленных аномалией соответствующего ферментного или иного белка.

Рассмотрим, к примеру, фенилкетонурию. Характерные биохимические изменения, наблюдаемые в крови, спинномозговой жидкости и моче при этом заболевании, можно объяснить тем, что из-за недостаточности фермента фенилаланин — 4-гидроксилазы нормальное метаболическое превращение фенилаланина в тирозин не происходит (стр. 155—158). Это заболевание наследуется как аутосомно-рецессивное, и обычно полагали, что все больные являются гомозиготами по одному и тому же аномальному гену. Однако на самом деле возможен целый ряд различных аномальных генов, которые могут неодинаковыми путями привести к утрате активности данного фермента. Если это так, то среди больных могут встречаться гомозиготы по тому или иному из этих генов, а также гетерозиготы по двум из них. Кроме того, причиной этого заболевания могут быть мутации в двух или более различных генных локусах. В настоящее время о структуре этого ферментного белка и о регуляции скорости его синтеза известно еще слишком мало, чтобы попытаться оценить, насколько правдоподобно такое предположение. Неизвестны также какие-либо маркеры сцепления, которые могли бы помочь выяснить, действительно ли это заболевание могут вызвать гены, находящиеся в разных локусах.

Различные мутации, обуславливающие недостаточность данного фермента, безусловно, могут различаться по степени нарушения, которое они вызывают, и, следовательно, по тяжести его клинических проявлений. Некоторые мутации могут приводить к полной утрате функционально активного фермента, и мутанты, у которых это по разным причинам произошло, часто могут оказаться пораженными «одинаковой» болезнью. Однако в тех случаях, когда ферментативная активность исчезает неполностью, степень недостаточности у разных мутантов может колебаться в широких пределах. И до тех пор, пока не будут выявлены молекулярные и генетические различия, лежащие в основе разных случаев заболевания, может казаться, что мы имеем дело с одной наследственной болезнью, вызываемой, по всей видимости, определенным аномальным геном, клинические проявления и тяжесть которой отличаются высокой степенью вариабельности. Почти наверное многие обычно наблюдаемые клинические варианты болезни, рассматриваемой как нозологическая единица, обусловлены этой общей причиной.

Примером такой ситуации, когда колебания функциональной активности того или иного фермента и клинических проявлений обусловлены различными мутациями, повреждающими данный ферментный белок, может служить случай глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы, для которой известно множество вариантов. Обнаружено почти 30 вариантных форм этого ферментного белка

(стр. 131—132).
и оптимизации
аллелей, кажущихся
изменение. Показ
женном в X-хромосоме
дого из этих аллелей
активности. Больные
эритроцитах; обнаружены
варианты фермента
ности Г-6-ФД. В некоторых
ды активности. В некоторых
менее четко выражены
Встречаются также
личающиеся по активности
Эти различия в активности
неодинаковой стабильности
торых случаях в эритроцитах
ских или других клетках

В некоторых случаях
рушения обмена веществ
того, чтобы вызвать
мии (из-за преждевременного
гих случаях поражения
ровы, однако у некоторых
мов гемолиза по типу
индивидуумов. Типичен
GdMediterranean, который
державшимся в крови
распространенного
и некоторым сульфогидрогеназы
варианты Г-6-ФД, которые
какой бы то ни было
тивной недостаточности
в какой-то мере

Такого же рода
нарушений, других
гипоксантин-гуанин
норме связанного
Леш и Нихан [38] описали
гический синдром
отсталостью, спастическим
дения, хореоатетозом
проявляющимися в
что это состояние
ного образ

(стр. 131—139). Они различаются между собой по электрофоретической подвижности, константам Михаэлиса, термостабильности и оптимумам pH. По-видимому, все они определяются серией аллелей, каждый из которых вызывает определенное структурное изменение. Поскольку эти аллели находятся в локусе, расположенном в X-хромосоме, у мужчин удастся изучать влияние каждого из этих аллелей в отдельности на уровень ферментативной активности. Большинство таких исследований было проведено на эритроцитах; обнаружено, что клетки, содержащие неодинаковые варианты фермента, существенно различаются по средней активности Г-6-ФД. В некоторых случаях обнаруживаются лишь следы активности, в других отмечается не столь резкое, но тем не менее четко выраженное снижение ферментативной активности. Встречаются также варианты фермента, лишь незначительно отличающиеся по средней активности от нормального фермента. Эти различия в уровне активности часто могут быть обусловлены неодинаковой стабильностью ферментных белков. Однако в некоторых случаях важную роль может играть изменение в кинетических или других свойствах фермента.

В некоторых случаях степень недостаточности фермента и нарушения обмена эритроцитов выражены достаточно сильно для того, чтобы вызвать состояние хронической гемолитической анемии (из-за преждевременного разрушения эритроцитов). В других случаях пораженные индивидуумы в обычных условиях здоровы, однако у них наблюдается склонность к развитию симптомов гемолиза под влиянием агентов, безвредных для других индивидуумов. Так, например, носители вариантного аллеля *GdMediterranean* чувствительны к некоторым веществам, содержащимся в конских бобах, а носители аллеля *GdA-* широко распространенного среди негров, чувствительны к примаксину и некоторым сульфамидным препаратам. Имеются также другие варианты Г-6-ФД, которые, по-видимому, не связаны с развитием какой бы то ни было патологии; вообще же степень ферментативной недостаточности, которая варьирует в широких пределах, в какой-то мере коррелирует с тяжестью клинических последствий.

Такого же рода взаимоотношения показаны и в отношении нарушений других ферментов. Особенно интересен пример гипоксантин:гуанин — фосфорибозилтрансферазы — фермента, в норме связанного с образованием мочевой кислоты (фиг. 91). Леш и Нихан [388] описали сложный и очень тяжелый неврологический синдром у детей, который характеризуется умственной отсталостью, спастическими параличами центрального происхождения, хореоатетозом и своеобразным нарушением поведения, проявляющимся в самоистязаниях укусами. Было обнаружено, что это состояние связано с гиперурикемией вследствие повышенного образования мочевой кислоты, что в некоторых случаях

сопровождается появлением уратных камней в мочевых путях и симптомами подагры. Оказалось, что это заболевание вызвано полным отсутствием активности гипоксантин:гуанин — фосфорибозилтрансферазы [569]; недостаточность обусловлена аномальным геном, локализованным в X-хромосоме [471].

Поскольку этот фермент участвует в образовании мочевой кислоты, он в дальнейшем был исследован у взрослых больных с типичной клинической картиной острого подагрического артрита или почечнокаменной болезни, а также у индивидуумов с гиперурикемией, обусловленной повышенным образованием мочевой кислоты [325, 326]. У таких больных в нескольких случаях была обнаружена недостаточность этого фермента, хотя и не столь резко выраженная, как при синдроме Леша — Нихана. Некоторые результаты приведены в табл. 34. Ясно, что встречается несколько совершенно различных типов аномалий, ведущих к гиперурикемии, однако в одной и той же семье у всех пораженных выявляется одна и та же аномалия. Так, в одной семье (табл. 34, семья J) ферментативная активность у пораженных индивидуумов, согласно определениям (определения проводились на эритроцитах, в качестве субстрата использовали гипоксантин и гуанин), составляла всего около 1% нормальной величины, а ферментный белок был значительно более термолабилен, чем нормальный фермент. В другой семье (табл. 34, семья L) у больных также отмечалась значительно пониженная ферментативная активность, однако ее снижение при использовании гуанина в качестве субстрата было значительно сильнее выражено, чем с гипоксантином; это указывает на измененный характер субстратной специфичности. Помимо этого фермент в данном случае оказался менее термолабильным, чем в норме.

Все это указывает на то, что в разных семьях встречаются различные аномальные гены, каждый из которых контролирует образование структурно отличной формы ферментного белка, обладающей аномальными свойствами. Каждая из них, очевидно, приводит к резко выраженной ферментной недостаточности, проявляющейся в повышенном образовании мочевой кислоты, что сопровождается гиперурикемией, причем клинические проявления (подагра и почечнокаменная болезнь) в разных случаях весьма сходны между собой. Тем не менее клиническая картина резко отличается от синдрома Леша — Нихана, который, по-видимому, возникает как следствие полного или почти полного отсутствия фермента и сопровождается тяжелым неврологическим расстройством, проявляющимся в детстве.

В заключение следует отметить следующее. Различия в проявлении определенных наследственных болезней у отдельных лиц могут зависеть не только от того, что они вызваны разными мутантными генами, определяющими характерное изменение фермента или другого белка, которое и служит главной причиной

Контроль (18 человек)

Синдром Леша — Нихана

Подагра вследствие разования мочевой

а) с нормальным

б) с недостаточн (10)

Семья J

FJ

RJ

TJ

Семья L

FL

ML

Семья S₁

TS

Семья D

AD

Семья G

JG

RG

Семья S₂

GS

заболевания; они конституции, они носители многих генных локусов (стр. 235-236) аллели, за исключением ковых по своему фону

ТАБЛИЦА 34

Гипоксантин:гуанин—фосфорибозилтрансферазная активность эритроцитов, измеренная с гипоксантином или гуанином в качестве субстрата [325]

	Фосфорибозилтрансферазная активность, мкмоль на 1 мг белка в 1 ч		Термостабильность по сравнению с нормой
	гипоксантин	гуанин	
Контроль (18 человек)	103 ± 18	103 ± 21	—
Синдром Леша—Нихана (9)	$<0,01$	$<0,004$	—
Подагра вследствие повышенного образования мочевой кислоты			
а) с нормальным ферментом (10)	99 ± 13	106 ± 21	—
б) с недостаточностью фермента (10)			
Семья J			
FJ	1,3	0,6	Понижена
RJ	1,5	0,8	
TJ	1,8	0,8	
Семья L			
FL	11,8	0,5	Повышена
ML	8,7	0,5	
Семья S ₁			
TS	9,9	9,5	Не определялась
Семья D			
AD	12,2	17,3	То же
Семья G			
JG	9,4	8,8	»
RG	9,2	7,5	»
Семья S ₂			
GS	0,03	0,009	»

заболевания; они зависят еще от особенностей всей генетической конституции носителя данного аномального гена. Поскольку во многих генных локусах могут присутствовать разные нормальные аллели (стр. 235—242), нельзя, вероятно, найти двух индивидумов, за исключением монозиготных близнецов, в точности одинаковых по своему «генетическому фону». Эти различия «генетического фона», безусловно, могут влиять на проявления того или

инного расстройства, поскольку от них зависят многие условия биохимической и физиологической среды, в которой должна реализоваться активность данного аномального гена. Некоторые комбинации генов в непораженных локусах могут ослабить патологические проявления, тогда как другие, напротив, — усилить их. Но поскольку эти разнообразные комбинации генов часто практически не приводят к видимым различиям между индивидуумами, не имеющими данного аномального гена, определить механизм, посредством которого они влияют на проявление аномального гена, дело крайне трудное.

Необходимо отличать изменчивость, зависящую от других локусов, помимо того, в котором находится данный аномальный ген, и изменчивость, обусловленную присутствием различных «нормальных» аллелей в том же самом локусе. Второй источник изменчивости, разумеется, возможен только в том случае, если больные являются гетерозиготами (т. е. при «доминантных» болезнях). Было установлено, что в одном и том же генном локусе могут встречаться несколько различных аллелей, по-разному влияющих на функцию и не обязательно вызывающих явное заболевание. Иногда два или более из этих аллелей распространены относительно широко, так что рассматриваемый аномальный ген может находиться в гетерозиготной комбинации с тем или иным из этих различных «нормальных» аллелей. Это может повлиять на проявление симптомов заболевания. Такой эффект нередко называют *аллельной модификацией*. Он и определяет то обстоятельство, что между sibсами сходство в проявлении определенной формы заболевания бывает большим, чем между родителями и детьми.

IV. НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И СРЕДА

Характерные черты индивидуума зависят не только от набора его генов, и, следовательно, от набора ферментов и других белков, которые образуются в его организме, но и от среды, в которой он развивается и живет. Взаимосвязи между тем, что Френсис Гальтон называет «природой» (nature) и «прокормом» (nurture), часто очень сложны и с трудом поддаются интерпретации. Однако нам безоговорочно ясна важность этих взаимосвязей и определении критериев того, что именно следует считать наследственными заболеваниями. Рассмотрим этот вопрос на примере нескольких болезней, для которых наследственная аномалия выявлена на уровне фермента и более или менее выяснены факторы среды, влияющие на ее проявление (табл. 35).

Прежде всего следует упомянуть о галактоземии (стр. 158—159). Это заболевание выражается в неспособности усваивать моносахарид галактозу из-за генетически обусловленной недостаточности фермента галактозо-1-фосфат — уридилтрансферазы.

Генетический
и факторы
заболевания

Галактоземия

Наследственная непереносимость фруктозы

Фенилкетонурия

Чувствительность к приему пищи

Чувствительность к суксаминиону

Цианоз

Галактоза в составе водным компонентом получают ее в большем количестве, чем трансферазы обмен галактозы в крови повышают фосфат; все это вызывает нарушение обмена галактозы. Если, однако, галактоза, но полностью не усваивается, то ребенок может страдать от галактоземии. Поэтому галактоземия должна рассматриваться как врожденное заболевание, но на лактозу, содержащуюся в грудном молоке, организм реагирует нормально. Он остается здоровым, пока не начнет получать при новых условиях жизни галактозу. Наследственная непереносимость галактозы — это заболевание, для которого характерна недостаточность фермента галактозо-1-фосфат — уридилтрансферазы.

ТАБЛИЦА 35

Генетически детерминированная ферментная недостаточность и факторы среды, обуславливающие различные заболевания

Заболевание	Затронутый фермент	Фактор среды
Галактоземия	Галактозо-1-фосфат—уридилтрансфераза	Лактоза, галактоза
Наследственная непереносимость фруктозы	Альдолаза печени	Фруктоза, сахароза
Фавизм	Глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназа	Конские бобы
Чувствительность к примаксину	То же	Примаксин, сульфамидные препараты и т. д.
Чувствительность к суксаметонию	Сывороточная холинэстераза	Суксаметоний
Цинга	L-гулонолактонооксидаза	Недостаточность витамина С

Галактоза в составе дисахарида лактозы служит главным углеводным компонентом молока, и поэтому обычно грудные дети получают ее в больших количествах. В отсутствие названной трансферазы обмен галактозы нарушается. Содержание галактозы в крови повышается, в клетках накапливается галактозо-1-фосфат; все это вызывает тяжелые клинические симптомы. Развитие ребенка нарушается, он медленно прибавляет в весе, нередко наблюдаются поражения печени и мозга, развиваются катаракты. Если, однако, ребенку давать пищу, не содержащую галактозы, но полноценную в других отношениях, то наступает быстрое улучшение. На практике, если диагноз поставлен достаточно рано, до того как наступили необратимые изменения, то ребенок может расти нормальным и здоровым.

Поэтому галактоземию можно в некотором смысле рассматривать как врожденную утрату способности соответствующим образом реагировать на один из нормальных факторов среды, а именно на лактозу, содержащуюся в молоке. При соответствующем изменении среды нарушение может быть предотвращено. Хотя у данного индивидуума фермент по-прежнему будет отсутствовать при новых условиях среды, это не будет иметь клинических последствий. Он останется предрасположенным к данной болезни, но клинически она не проявится.

Наследственная непереносимость фруктозы (стр. 160—164) еще раз иллюстрирует это явление. В данном случае речь идет о недостаточности альдолазы печени (альдолаза В), необходимой для нормального обмена фруктозы. Прием с пищей фруктозы или сахарозы вызывает тяжелые симптомы. Если же фруктозу исключить из рациона, то повреждающего действия не будет. В отли-

чие от галактозы фруктоза не является обязательной составной частью нормальной пищи грудных детей. Вследствие этого проявления и тяжесть этой болезни колеблются в более широких пределах. По-видимому, важный фактор при этом — момент прекращения кормления грудью. Если ребенка рано переводят на искусственное вскармливание, при котором он получает сахарозу, то его состояние быстро ухудшается. Если природа нарушения не распознана, то дело может дойти до необратимых изменений. Если, однако, ребенка продолжают кормить грудью в течение нескольких месяцев, то часто он начинает потом сам отвергать пищу, которая ему вредит; в это время уже гораздо больше вероятность того, что аномалия будет распознана. Помимо этого у таких детей обычно развивается отвращение к сахару, сладостям и фруктам, и таким образом они сами оберегают себя. Итак, ясно, что тяжесть проявлений наследственных заболеваний может в значительной мере зависеть от совершенно случайных и, по-видимому, не связанных между собой факторов среды. В данном случае таким фактором является время отнятия от груди. Кстати, на этом примере видно также, что предпочтение той или иной пищи может быть прямым следствием ферментной аномалии.

Особенно ярко зависимость наследственности от факторов среды предстает перед нами на примере фавизма. Это заболевание, выражающееся в тяжелой интермиттирующей гемолитической анемии, приступы которой провоцируются приемом с пищей конских бобов (*Vicia faba*), известно уже давно. Фавизм особенно распространен на Ближнем Востоке и в некоторых районах южной Европы, т. е. в тех областях, где бобы являются обычным пищевым продуктом. Однако фавизм развивается далеко не у всех людей, которые едят бобы. Он возникает лишь у людей с генетически детерминированной недостаточностью Г-6-ФД, обычно обусловленной присутствием варианта Gd-Средиземноморский. Таким образом, для того, чтобы болезнь проявилась, нужно, чтобы данный индивидуум был носителем соответствующего гена и принимал ■ пищу бобы. Итак, для развития заболевания существенны как генетический фактор, так и фактор среды. В действительности дело обстоит даже еще сложнее, поскольку не у всех индивидуумов с этой специфической ферментной недостаточностью, которые едят конские бобы, развивается болезнь крови, ■ у тех, у кого она возникает, тяжесть болезни может быть неодинаковой. Причины этого не вполне ясны, но имеются некоторые указания на то, что дело здесь, возможно, в действии каких-то дополнительных генетических факторов, а также в различиях ■ количестве съедаемых бобов и в том, в каком виде они принимаются в пищу.

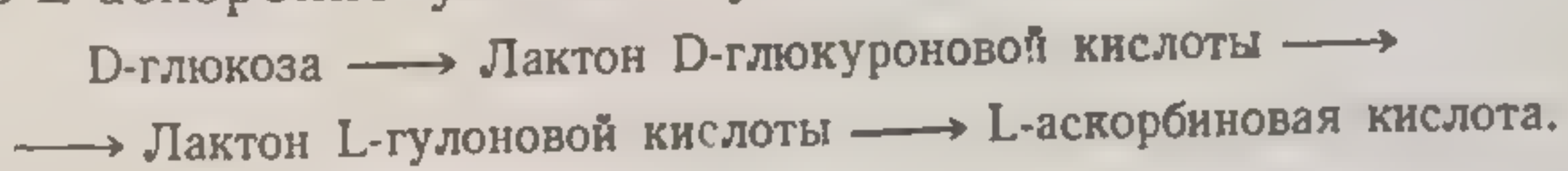
Не вызывает никаких сомнений, что галактоземия является наследственным заболеванием, поскольку она проявляется у всех

наследственный фактор...
повсеместно. То...
ной наследственной...
несколько...
в степени тяжести...
визм нельзя рас...
следственным фак...
что это относится...
чающимся в клини...
На практике в...
вание к наследстве...
ды, приходится ре...
наследственного п...
среды. Если на...
относительно редк...
■ достаточно ши...
в случае галактозе...
к наследственным...
ложение относитель...
встречаются нечаст...
тать наиболее важн...
Рассмотрим в к...
но, люди и другие...
новую кислоту (ви...
причинам в их пи...
у них развивается...
этого не происходи...
зировать L-аскорби...
D-глюкоза...
→ Лактон...
Очевидно, у чел...
утерян в ходе эво...
щать лактон L-гуло...
Таким образом, пи...
как заболевание, п...
а именно недоста...
основанием можно...
нарушением обмен...
В некоторых сл...
жение к данному...
и встречаемость оп...
рует это заболеван...
ствах заболевание...
...ма не...

индивидуумов с соответствующей генетической конституцией. Фактор среды, к которому они чувствительны, присутствует повсеместно. То же по существу справедливо и для наследственной непереносимости фруктозы, но в этом случае фактор среды несколько более вариабелен, и это влечет за собой различия в степени тяжести клинических проявлений болезни. Однако фавизм нельзя рассматривать как болезнь, вызываемую только наследственным фактором или только фактором среды, и возможно, что это относится также ко многим другим заболеваниям, встречающимся в клинической практике.

На практике вопрос о том, относить ли то или иное заболевание к наследственным или же к обусловленным факторами среды, приходится решать в зависимости от относительной частоты наследственного предрасположения и провоцирующих факторов среды. Если наследственное предрасположение встречается относительно редко, а провоцирующий фактор среды распространен достаточно широко, а то и повсеместно (как это имеет место в случае галактоземии), то данное заболевание следует относить к наследственным. Если же, напротив, генетическое предрасположение относительно обычно, а неблагоприятные условия среды встречаются нечасто, то факторы среды, видимо, приходится считать наиболее важной причиной.

Рассмотрим в качестве примера цингу. Насколько нам известно, люди и другие приматы неспособны синтезировать L-аскорбиновую кислоту (витамин С). Следовательно, если по тем или иным причинам в их пище содержится недостаточно этого витамина, то у них развивается цинга. У большинства других млекопитающих этого не происходит, так как они, по-видимому, могут сами синтезировать L-аскорбиновую кислоту из D-глюкозы:



Очевидно, у человека и других приматов необходимый ген был утрачен в ходе эволюции, а с ним и фермент, способный превращать лактон L-гулоновой кислоты в L-аскорбиновую кислоту [92]. Таким образом, цинга с достаточным основанием рассматривается как заболевание, вызываемое неблагоприятным фактором среды, а именно недостатком витамина С в пище. Однако с равным основанием можно утверждать, что она обусловлена врожденным нарушением обмена веществ, общим для всего человечества [597].

В некоторых случаях, конечно, и наследственное предрасположение к данному заболеванию может быть относительно редким и встречаемость определенных факторов среды, которые провоцирует это заболевание, может быть низкой. При таких обстоятельствах заболевание также должно быть редким и распространенным весьма неравномерно, а результаты семейных обследований могут вовсе не обязательно показывать, что в его возникновении

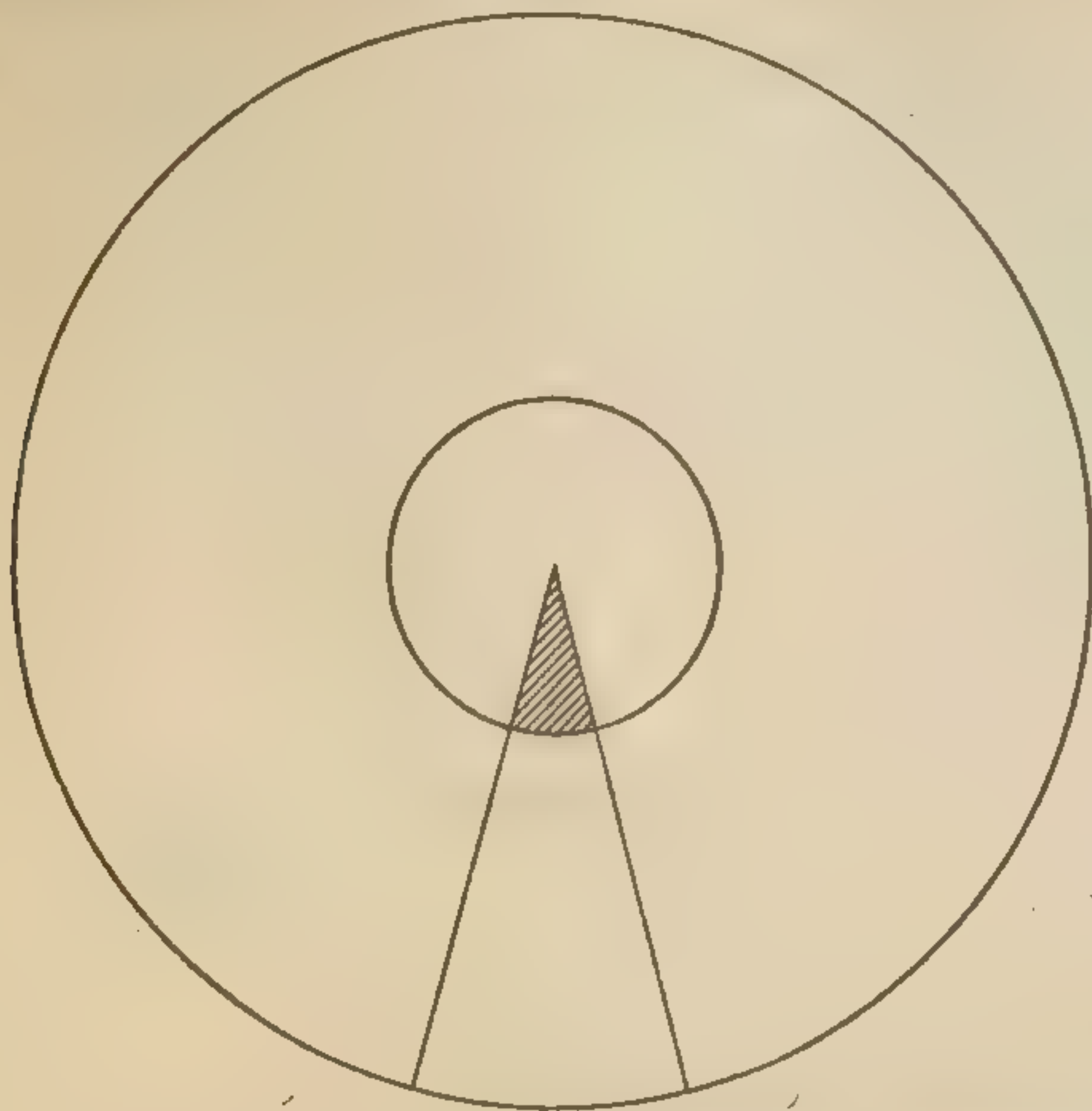
какую-то роль играют наследственные факторы. Простой моделью ситуации такого рода является встречаемость нарушения, известного как чувствительность к суксаметонию. Приблизительно в одном случае из 2000 отмечается высокая чувствительность к суксаметонию, часто применяемому в качестве мышечного релаксанта при хирургических операциях. Такая чувствительность обусловлена либо синтезом атипичной формы сывороточной холинэстеразы, значительно менее эффективно разрушающей этот препарат, чем обычный фермент, либо вообще отсутствием синтеза данного фермента. В обоих случаях вызываемый этим препаратом паралич мышц и связанная с ним остановка дыхания оказываются слишком продолжительными. Однако если пораженные индивидуумы не подвергаются воздействию такого необычного и в общем-то искусственного фактора среды, каким является суксаметоний, то они, по-видимому, вполне здоровы. Таким образом, для того чтобы возникло клиническое отклонение от нормы, в данном случае необходимо сочетание редкого наследственного предрасположения и необычных условий среды. Не удивительно поэтому, что семейный характер этой аномалии часто не удается распознать.

Если сопоставить весь спектр болезней и аномалий у человека, то на одном полюсе окажутся такие заболевания, как серповидноклеточная анемия, фенилкетонурия, гемофилия, мышечная дистрофия и т. п., которые мы рассматриваем как наследственные, поскольку они развиваются у всех носителей соответствующих генов. На другом полюсе будут находиться болезни, обусловленные преимущественно факторами внешней среды: например тяжелые инфекции, такие, как чума, сибирская язва, тиф и т. п., т. е. такие, которые, как правило, поражают всех, кто сталкивается с провоцирующими заболевание факторами. Однако имеется много заболеваний, часто достаточно широко распространенных, для развития которых, по-видимому, важны как наследственный фактор, так и фактор среды. Типичными примерами таких заболеваний служат шизофрения, сахарный диабет и язвенная болезнь. Для всех этих заболеваний характерно наличие наследственного предрасположения, но в то же время ясно, что болезнь развивается только у части генетически предрасположенных индивидуумов. Однако во всех подобных случаях нам не известна природа первичных эффектов соответствующих генов. Кроме того, мы не в состоянии достаточно четко определить те условия среды, которые приводят к возникновению заболевания у одних индивидуумов в отличие от других, также генетически предрасположенных к нему.

Такую ситуацию можно в общих чертах иллюстрировать простой схемой, представленной на фиг. 84. Область, ограниченная внешней окружностью, — это популяция в целом, площадь внутреннего круга — те индивидуумы данной популяции, которые

Фиг. 84. Схема, неблагоприятных
Площадь большого круга
вой популяции, генети-
ограниченный двумя
ых условиях среды, т
секто

наследственно
Область, заклю-
ности, соответст-
воздействию фак-
(в данном слу-
(в данном слу-
гается воздействи-
ствительности
(защитированн
генетическое п
популярных ус-
Практически
в том, что она
ния (с помощью
расположенны
обнаружить д
дует выяснит
ское предрасп
соответствующ
у предрасполо-
рушения.



Ф и г. 84. Схема, иллюстрирующая роль генетического предрасположения и неблагоприятных факторов среды в возникновении заболевания (см. текст).

Площадь большого круга — популяция, площадь внутреннего круга — индивидуумы данной популяции, генетически предрасположенные к определенному типу заболевания. Сектор, ограниченный двумя радиусами, — часть популяции, находящаяся в некоторых определенных условиях среды, провоцирующих развитие данного заболевания. Заштрихованная часть сектора — индивидуумы, которые действительно заболевают.

наследственно предрасположены к болезни определенного рода. Область, заключенная между двумя радиусами большей окружности, соответствует той части популяции, которая подвергается воздействию факторов среды, провоцирующих данное нарушение (в данном случае это меньшая группа); все остальное — та (в данном случае большая) часть популяции, которая не подвергается воздействию этих факторов. Клинические нарушения в действительности развиваются только у небольшой части популяции (заштрихованный сектор), т. е. у тех индивидуумов, для которых генетическое предрасположение сочетается с воздействием неблагоприятных условий среды.

Практическое значение такой постановки вопроса состоит в том, что она помогает, после того как найдены способы выявления (с помощью генетических методов) в данной популяции предрасположенных к тому или иному заболеванию индивидуумов, обнаружить далее критические факторы среды. По существу, следует выяснить, при каких условиях среды реализуется генетическое предрасположение. Если это будет установлено, то можно соответствующим образом изменить условия среды, прежде чем у предрасположенных индивидуумов разовьются клинические нарушения.

Разумеется, для разных заболеваний доля генетически предрасположенных людей в популяции может быть различной — очень малой или, наоборот, большой, да и часть популяции, подвергающаяся воздействию неблагоприятных условий среды, также может варьировать по величине. Сверх того, не исключено, что тот или иной вид предрасположения обусловлен несколькими генами, действующими по-разному. Но поскольку эффекты таких генов неодинаковы, то и степень предрасположения будет варьировать. Таким образом, на самом деле все линии, приведенные на фиг. 84, должны быть далеко не столь четкими.

При всем том простой подход, который иллюстрирует приводимая схема, весьма полезен при рассмотрении проблем, возникающих в связи с патологическими состояниями, в особенности более распространенными из них. Мы приходим к примечательному парадоксу. Оказывается, что изучение *генетики* многих болезней может привести к разработке методов их предотвращения или лечения, заключающихся исключительно в *изменениях среды*. Весьма возможно, что одним из наиболее важных социальных и медицинских аспектов приложения генетических исследований окажется регулирование условий среды, поскольку чем точнее мы сможем охарактеризовать генетическую конституцию индивидуума, тем яснее нам станет, каким образом следует изменять или приспособлять условия среды соответственно его потребностям.

СБЯ

(ВРОЖ

А. НАРУ

Затронутый фермент
1. Гексокиназа (изоферменты)
(АТФ:D-глюкозо-6-фосфотрансфераза)
2.7.1.1¹

2. Фосфогексоизомеразы
(фосфогексоизомеразы)
(глюкозо-6-фосфат — кинотрансфераза)
5.3.1.9

3. Фосфофруктокиназа
(фосфофруктокиназа)
(глюкозо-6-фосфат — кинотрансфераза)
2.7.1.1¹

НАРУШЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ФЕРМЕНТОВ (ВРОЖДЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА)

А. НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Затронутый фермент

1. Гексокиназа (изофермент эритроцитов) (АТФ:D-гексоза—6-фосфотрансфераза)

2.7.1.1¹

Нарушение и его проявления

Гемолитическая анемия, обусловленная недостаточностью гексокиназы

Недостаточное фосфорилирование глюкозы (фиг. 85) лимитирует гликолиз и приводит к преждевременному распаду эритроцитов и хронической гемолитической анемии. В лейкоцитах недостаточность гексокиназы не обнаруживается [643].

2. Фосфогексоизомераза (глюкозофосфатизомераза) (D-глюкозо-6-фосфат — кетол-изомераза)

5.3.1.9

Недостаточность фосфогексоизомеразы (глюкозофосфатизомеразы)

Нарушение превращения глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат (фиг. 85) в эритроцитах ограничивает гликолиз и приводит к тяжелой гемолитической анемии. Недостаточность фермента отмечается также в лейкоцитах, и, вероятно, в других тканях, что, однако, не вызывает видимых клинических проявлений. Встречается несколько различных аллелей, определяющих структурные варианты фермента с аномальными функциональными свойствами, а также ряд других вариантов [36, 138, 479].

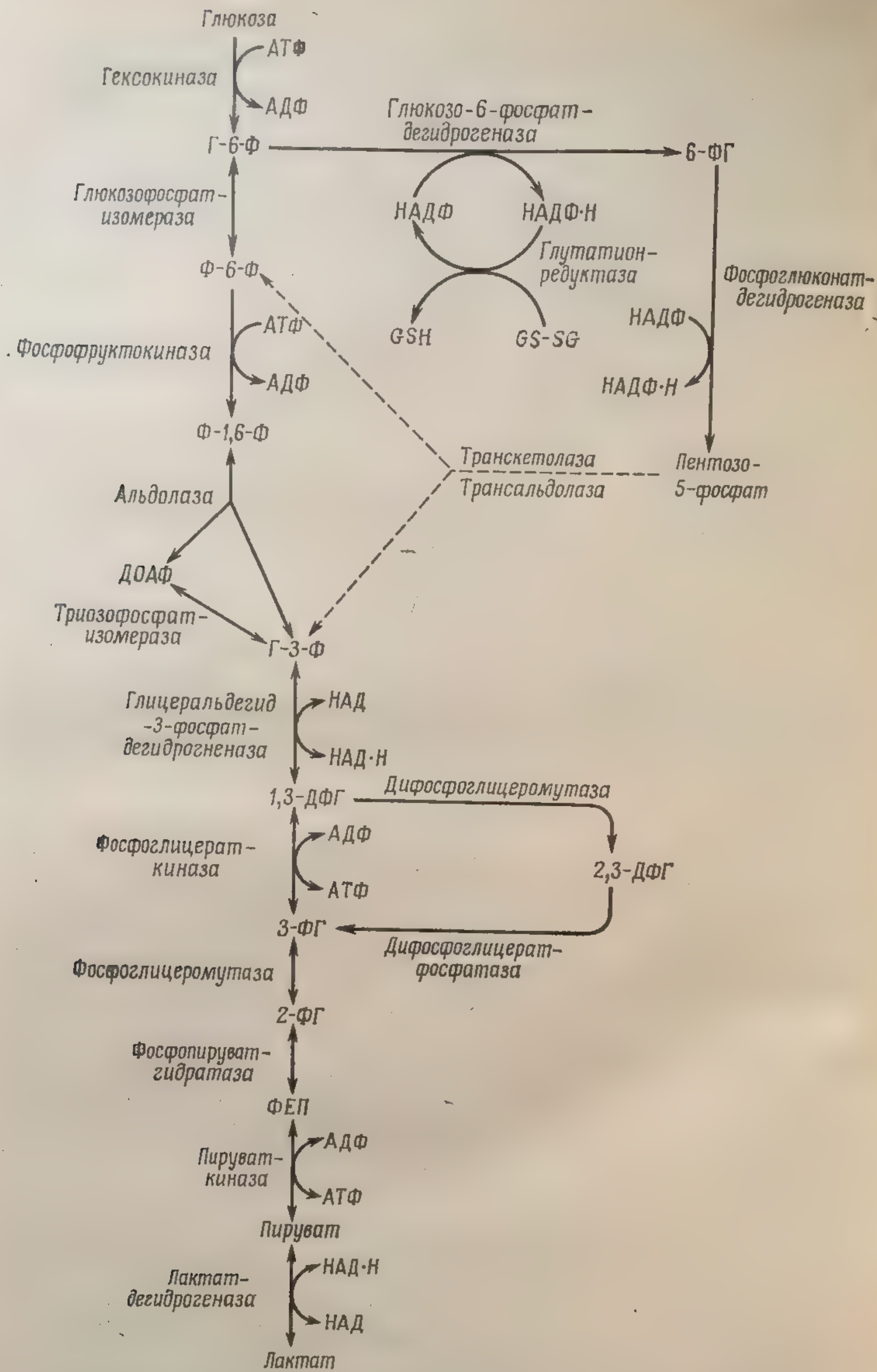
3. Фосфофруктокиназа (изофермент мышц) (АТФ : D-фруктозо - 6 - фосфат — 1 - фосфотрансфераза)

2.7.1.11

Недостаточность фосфофруктокиназы

Ограничение гликолиза в мышцах вследствие резкого снижения ферментативной активности приводит к отложению гликогена. При длительном напряжении развивается слабость и ригидность мышц. В эритроцитах ферментативная активность также до некоторой степени снижена, что вызывает слабо выраженный хронический гемолиз. Остаточная фосфофруктокиназная активность, определяемая в эритроцитах (около 50%), обусловлена присутствием другого изофермента, не изменяющегося при этом нарушении [370, 624, 625].

¹ Цифры после названия фермента означают шифр, под которым он значится в номенклатуре ферментов (см. «Номенклатура ферментов», Рекомендации Международного биохимического союза», М., 1966).



Ф и г. 85. Ферменты, участвующие в обмене глюкозы в эритроцитах [642].

4. Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа) 5.3.1.1
5. Альдолаза В (изомеризация) (кетозо-1-фосфат-альдегид-лиаза) 4.1.2.7
6. Фосфоглицераткиназа (3-фосфо-D-глицерат-3-фосфотрансфераза) 2.7.2.3
7. Пируваткиназа (эритроцитов) (АТФ: пируват-киназа) 2.7.1.40
8. Дифосфоглицераткиназа (дифосфо-D-глицерат-2-фосфотрансфераза) 2.7.5.4
9. Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (D-глицерат-6-фосфат: НАДФ-оксидоредуктаза) 1.1.1.49
10. Глутатионредуктаза (восстановленный НАДФ-глютатион-редуктаза) 1.6.4.2
11. Галактокиназа (галактоза-1-фосфотрансфераза)

4. Триозофосфатизомераза (D-глицеральдегид-3-фосфат — кетол-изомераза)
5.3.1.1

Недостаточность триозофосфатизомеразы

Ферментная недостаточность имеет место в эритроцитах, лейкоцитах, мышцах, спинномозговой жидкости и, вероятно, в других тканях. Выражается в нарушении гликолиза с резким повышением концентрации диоксиацетонфосфата (фиг. 85). Главные клинические проявления — хроническая гемолитическая анемия, а у некоторых больных, которые живут более года, прогрессирующие неврологические нарушения, затрагивающие как периферические нервы, так и центральную нервную систему [555, 556, 557, 644].

5. Альдолаза В (изофермент печени) (кетозо-1-фосфат — альдегид-лиаза)
4.1.2.7

Наследственная непереносимость фруктозы (фруктоземия)

(стр. 161—164).

6. Фосфоглицераткиназа (АТФ: 3-фосфо-D-глицерат — 1-фосфотрансфераза)
2.7.2.3

Недостаточность фосфоглицераткиназы

Нарушение гликолиза в эритроцитах (фиг. 85), вызывающее хроническую гемолитическую анемию. Ферментная недостаточность обнаруживается как в эритроцитах, так и в лейкоцитах. [351 642].

7. Пируваткиназа (изофермент эритроцитов) (АТФ: пируват — фосфотрансфераза)
2.7.1.40

Недостаточность пируваткиназы

(стр. 164—165)

8. Дифосфоглицератмутаза (1,3-дифосфо-D-глицериновая кислота: 3-фосфо-D-глицерат — фосфотрансфераза)
2.7.5.4

Недостаточность дифосфоглицератмутазы

Повреждение эритроцитов проявляется тяжелой гемолитической болезнью [560].

9. Глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназа (D-глюкозо-6-фосфат: НАДФ — оксидоредуктаза)
1.1.1.49

Недостаточность глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназы, чувствительность к примакину, фавизм и др.
(стр. 131—139).

10. Глутатионредуктаза (восстановленный НАДФ: окисленный глутатитон — оксидоредуктаза)
1.6.4.2

Недостаточность глутатионредуктазы

Хроническая гемолитическая анемия, значительно варьирующая по степени тяжести, которую часто провоцируют или усугубляют лекарственные препараты [399, 659, 660].

11. Галактокиназа (АТФ: D-галактоза — 1-фосфотрансфераза)
2.7.1.6

Недостаточность галактокиназы

(стр. 159—160)

12. Галактозо-1-фосфат — уридилтрансфераза (УДФглюкоза: α -D-галактозо-1-фосфат — уридилтрансфераза)
2.7.7.12

Галактоземия (стр. 158—159)

13. Фруктокиназа (АТФ: D-фруктоза — 6-фосфотрансфераза)
2.7.1.4

Эссенциальная фруктозурия

Нарушение фосфорилирования фруктозы приводит к повышению содержания фруктозы в крови и аномальному выведению фруктозы с мочой после приема пищи, содержащей фруктозу. Это нарушение не вызывает патологических симптомов [367, 540, 546].

14. Глюкозо-6-фосфатаза (D-глюкозо-6-фосфат — фосфогидролаза)
3.1.3.9

Болезнь Гирке (гликогеноз типа I)
175

15. α -1,4-Глюкозидаза (лизосомная)

Болезнь Помпе (гликогеноз типа II)
(стр. 176)

16. Амило-1 6-глюкозидаза

Болезнь Форбса (гликогеноз типа III)
(стр. 175)

17. Амило-(1,4 \rightarrow 1,6)-трансглюкозидаза

Болезнь Андерсена (гликогеноз типа IV)
(стр. 174)

18. Фосфорилаза (мышечная) (α -1,4-глюкан: ортофосфат — глюкозилтрансфераза)
2.4.1.1

Болезнь Мак-Ардла (гликогеноз типа V)
(стр. 174)

19. Киназа фосфорилазы (АТФ: фосфорилаза — фосфотрансфераза)
2.7.1.38

Болезнь депонирования гликогена (один из гликогенозов) (стр. 174).

20. Гликогенсинтетаза (УДФглюкоза: гликоген — α -4-глюкозилтрансфераза)
2.4.1.11

Недостаточность гликогенсинтетазы
(стр. 173—174)

21. L-ксилулозоредуктаза [ксилит: НАДФ — оксидоредуктаза (образующая L-ксилулозу)]
1.1.1.10

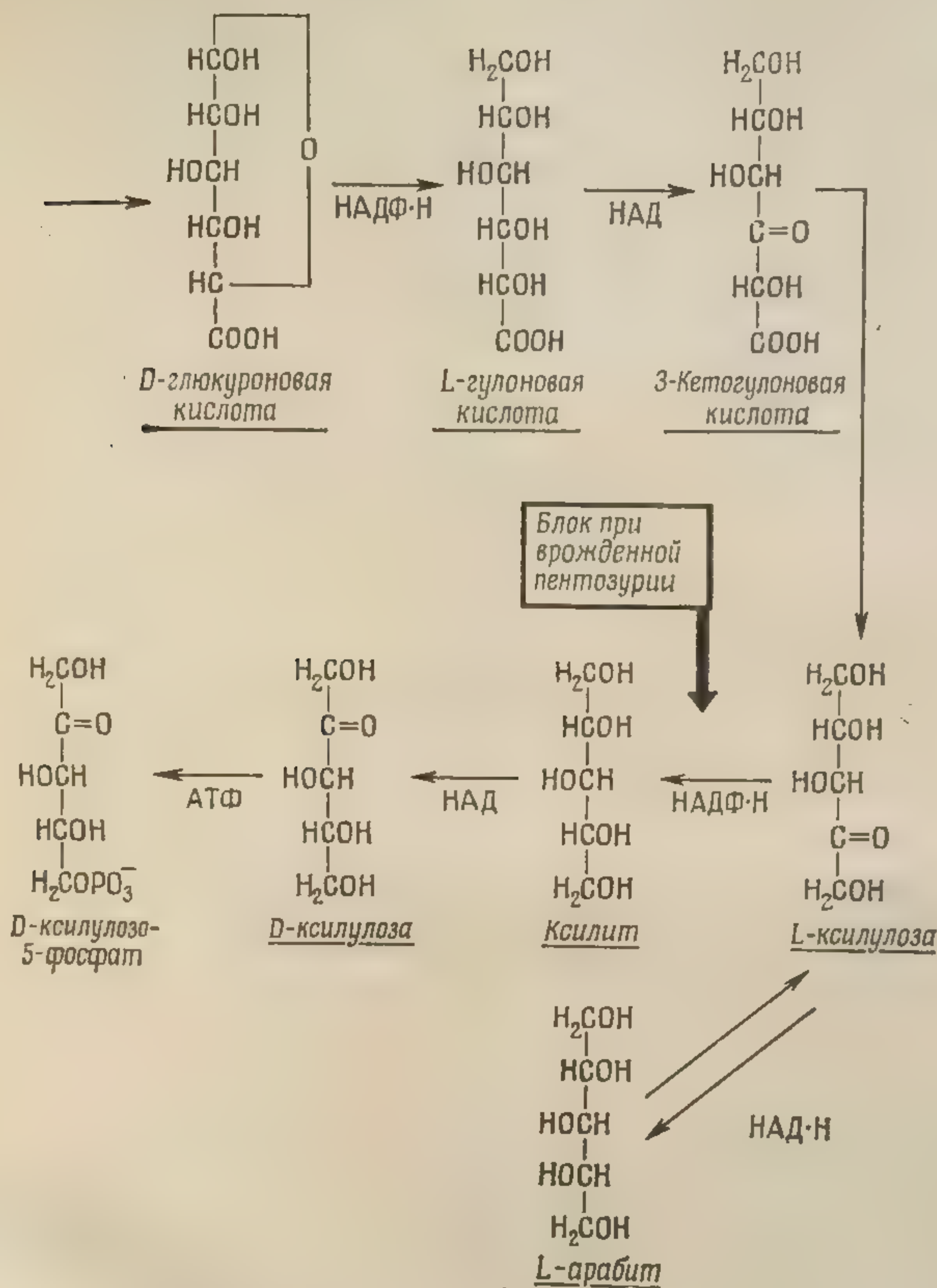
Врожденная пентозурия

L-ксилулоза (L-ксилокетоза) является нормальным промежуточным продуктом метаболического пути обмена D-глюкуроновой кислоты (фиг. 86). Недостаточность фермента выражается в накоплении L-ксилулозы и постоянном выделении ее в больших количествах с мочой.

Выявлено также повышенное выделение L-арабита. Патологические симптомы отсутствуют. Выделение L-ксилулозы с мочой резко повышается после приема глюкуроновой кислоты или некоторых фармакологических препаратов, стимулирующих образование глюкуроновой кислоты и выделяющихся в виде глюкуронидов [154, 249, 368, 635].



Фиг. 86. Метаболизм
указано положение
22. Изомальтаза (мальтаза)
и сахараза (мальтаза)



Ф и г. 86. Метаболический путь окисления глюкуроновой кислоты. Указано положение метаболического блока при врожденной пентозурии.

22. Изомальтаза (мальтаза 1a) и сахараза (мальтаза 1b)

Непереносимость сахарозы и изомальтозы
 Утрачена способность гидролизовать сахарозу и изомальтозу, образующуюся из крахмала в процессе пищеварения. При обычном рационе наблюдаются хронические поносы с пенистыми жидкими кислыми испражнениями. Кислая реакция кала обусловлена присутствием молочной и других органических кислот, образующихся из непереваренных углеводов в результате бактериального брожения в толстом кишечнике [503, 522, 678].

23. Лактаза

Врожденная непереносимость лактозы

Утрачена способность гидролизовать лактозу (содержится главным образом в молоке). Сразу после рождения начинаются хронические поносы [261, 393].

Б. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

Затронутый фермент

1. Фенилаланин — 4-гидролаза
1.14.3.1

Нарушение ■ его проявления

а. *Фенилкетонурия* (стр. 155—158)

Полностью или почти полностью утрачена способность превращать фенилаланин ■ тирозин (см. фиг. 61). Содержание фенилаланина ■ крови при отсутствии лечения обычно превышает 0,02%. Обычно отмечается резко выраженная умственная отсталость.

б. «Гиперфенилаланинемия»

Вероятно, гетерогенная группа расстройств, при которых отмечается частичное нарушение превращения фенилаланина ■ тирозин. Содержание фенилаланина ■ крови составляет 0,006... 0,02%. Обычно не сопровождается умственной отсталостью. Большинство случаев было выявлено при массовом обследовании новорожденных на предмет выявления фенилкетонурии (определялось содержание фенилаланина в крови) [19, 48, 311].

2. Оксидаза *п*-оксифенилпировиноградной кислоты (гидроксилаза)
[*п*-оксифенилпироват, аскорбинат: кислород — оксидоредуктаза (гидроксилирующая)]
1.14.2.2

Тирозинемия

Утрачена способность превращать *п*-оксифенилпировиноградную кислоту в гомогентизиновую кислоту (см. фиг. 60). Отмечается высокое содержание тирозина в крови. Резко повышено выведение с мочой тирозина, *п*-оксифенилпировиноградной кислоты и других производных. Тяжелое поражение печени в раннем возрасте, нередко со смертельным исходом. В случаях выживания наблюдается цирроз печени, поражение почечных канальцев и устойчивый рахит [185, 221, 359, 568, 623].

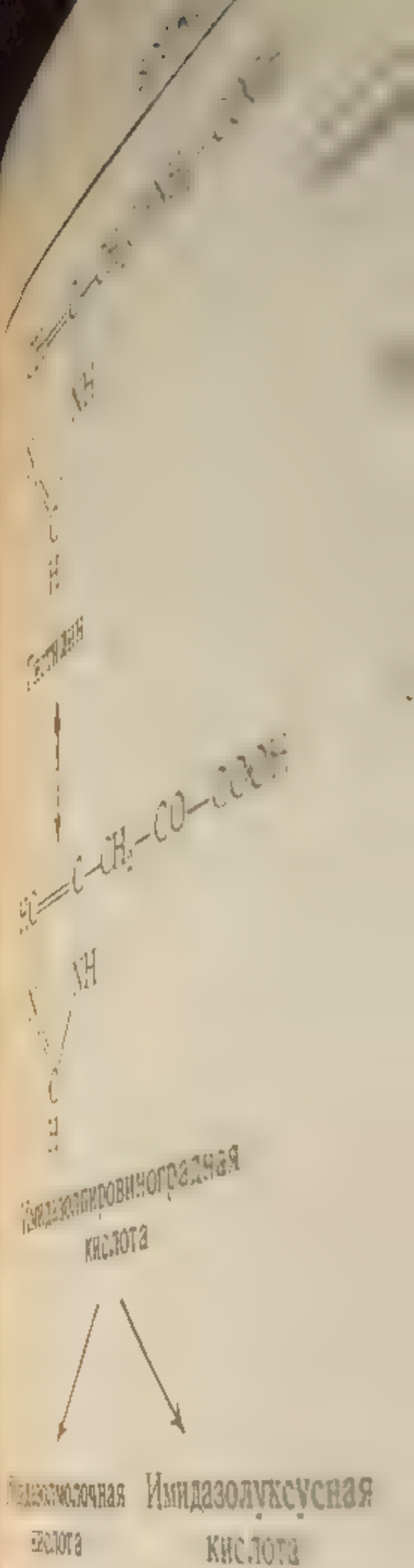
3. Оксидаза гомогентизиновой кислоты
(гомогентизинат: кислород — оксидоредуктаза)
1.13.1.5

Алкаптонурия (стр. 151—153)

4. Гистидаза (гистидин- α -деаминаза)
(L-гистидин — аммиак-лиаза)
4.3.1.3

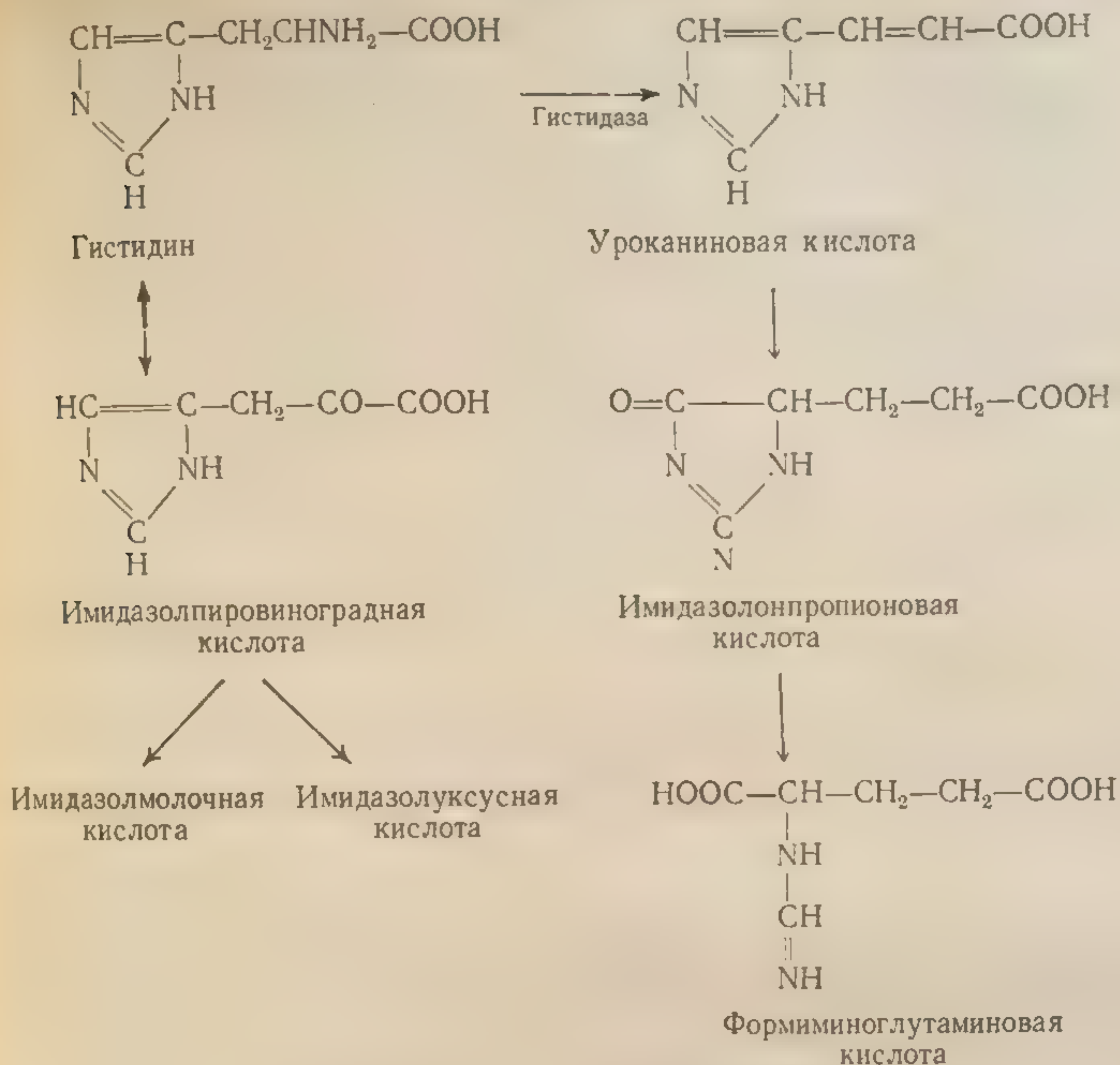
Гистидинемия

Утрачена способность образовывать урканиновую кислоту из гистидина (фиг. 87). Содержание гистидина в крови повышено. Повышенное выделение с мочой гистидина



Фиг. 87. Путь

5. Цистатионинсинтететаза (серин-дегидратаза)
[L-серин — гидро-лиаза (де-заминирующая)]
4.2.1.13



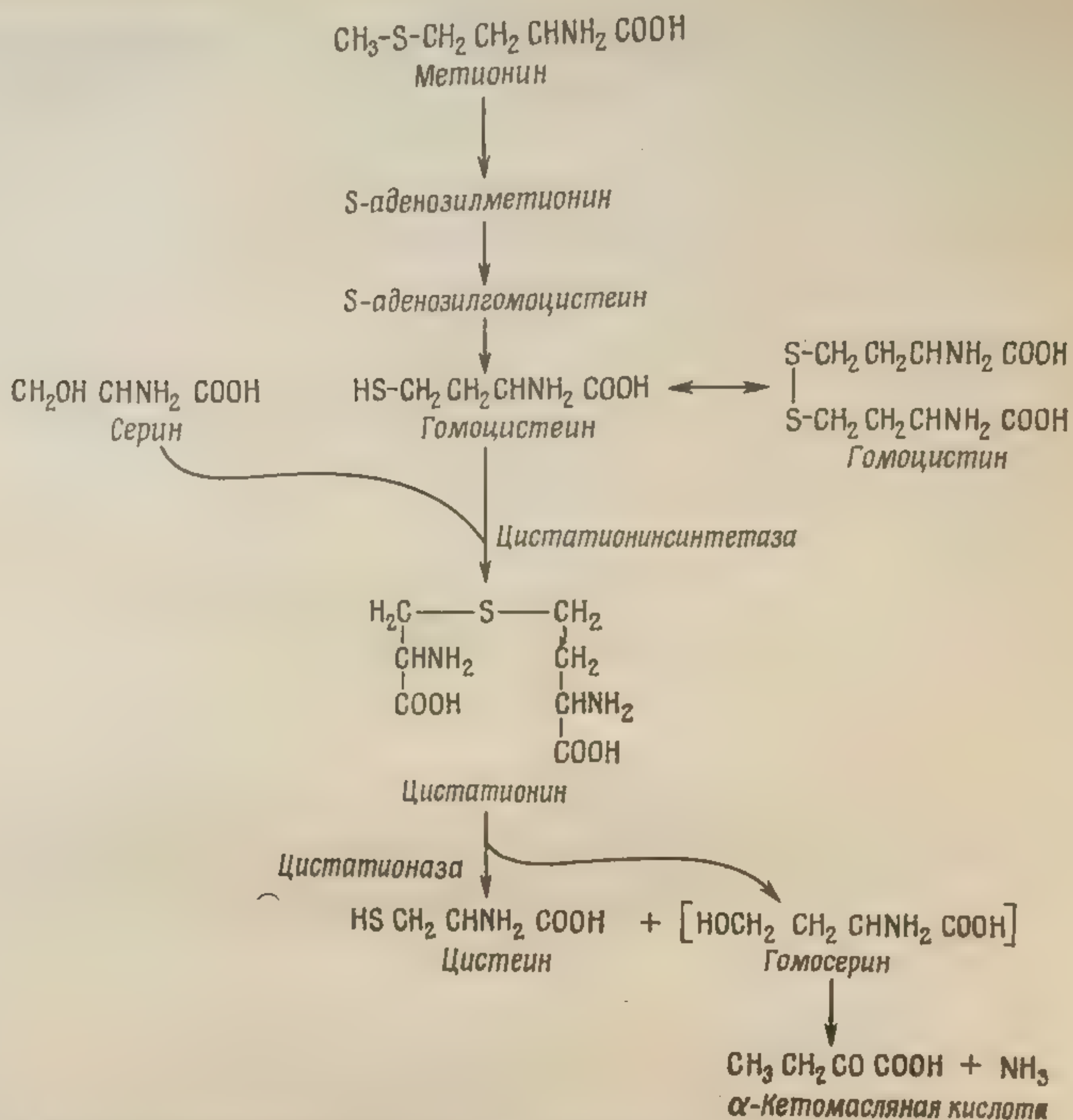
Ф и г. 87. Пути обмена гистидина.

5. Цистатионинсинтетаза (серин-дегидратаза)
[L-серин — гидро-лиаза (де-заминирующая)]
4.2.1.13

и имидазолпировиноградной кислоты. В моче отсутствует формиминоглутаминовая кислота после нагрузки гистидином. В выделениях потовых желез отсутствует уроканиновая кислота. Обычны дефекты речи; такие дети часто начинают говорить с запозданием. Примерно у половины больных наблюдается некоторая степень умственной отсталости [20, 191, 192, 359, 362].

Гомоцистинурия

Утрачена способность образовывать цистатионин из гомоцистеина и серина (эта реакция представляет собой один из этапов метаболического пути образования цистеина из метионина, фиг. 88). Аномально большое количество гомоцистина выводится с мочой. Содержание гомоцистина и метионина в сыворотке повышено. Цистатионин, в норме содержащийся в ткани мозга в значительных количествах, при этом наруше-



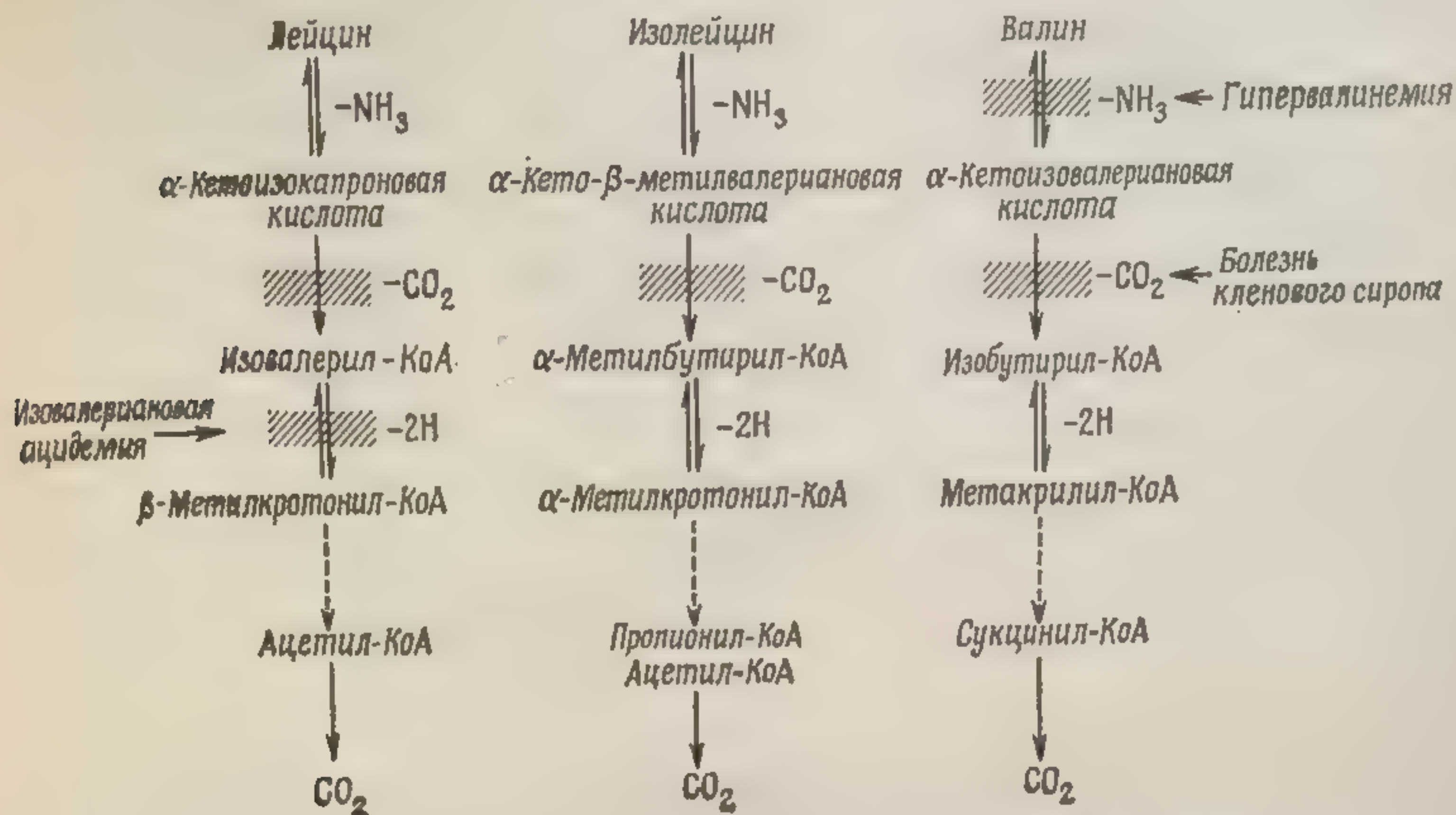
Ф и г. 88. Метаболический путь образования цистенна из метионина.

6. Цистатионаза (гомосериндегидратаза)
 [L-гомосерин — гидро-лиаза
 (дезаминирующая)]
 4.2.1.15

Цистатионинурия

Утрачена способность расщеплять цистатионин с образованием цистина, α-кетобутирата и аммиака (эта реакция представляет собой один из этапов главного пути метаболизма метионина, фиг. 88). Отмечается высокое содержание цистатионина в моче; содержание цистатионина в тканях и в сыворотке повышено. У некоторых больных отмечалась умственная отсталость и психические расстройства, однако не ясно, связаны ли эти патологические явления с данной аномалией обмена [172, 179, 180, 181, 232].

Ф. Декарбоксилаза (декарбоксилаза) кетокислот с р-вленной цепью



Ф и г. 89. Пути обмена аминокислот с разветвленной цепью.

Указаны положения метаболических блоков при болезни кленового сиропа, гипервалинемии и изовалериановой ацидемии [90].

7. Иодтирозиндеиодиназа

Кретинизм и зоб (один из типов)

Нарушение деиодирования моно- и диiodтирозина при синтезе тиреоидных гормонов. Постоянная утечка этих предшественников гормонов из щитовидной железы и из организма приводит к истощению запасов иода и к гиперплазии щитовидной железы. Клинически это выражается в резком увеличении щитовидной железы, сопровождающемся тяжелым гипотиреозом [286, 454, 507, 606].

8. Декарбоксилаза (декарбоксилазы) кетокислот с разветвленной цепью

а. Болезнь кленового сиропа

Аминокислоты с разветвленной цепью — лейцин, изолейцин и валин — в норме распадаются в результате ряда реакций, начиная с превращения их в соответствующие кетокислоты с их последующим декарбоксилированием (фиг. 89). При данном нарушении имеет место дефект ферментной системы (или отдельных ферментов), связанной со стадией декарбоксилирования. В сыворотке отмечается высокое содержание лейцина, изолейцина и валина; большие количества этих аминокислот, а также соответствующих α-кетокислот (изовалериановой, β-метилвалериановой и изокапроновой) выделяются с мочой, придавая ей характерный запах. В сыворотке в аномальных количествах содержится также алло-изолейцин, вероятно образующийся из изолей-

цина. Вскоре после рождения, как правило, развивается прогрессирующее неврологическое заболевание с выраженной дегенерацией мозга; ребенок обычно погибает в первые недели или месяцы жизни [120, 121, 204, 407, 598].

б. Интермиттирующая кетонурия (выведение с мочой кетокислот с разветвленной цепью)

Несколько менее тяжелая недостаточность того же фермента (ферментов), что и при болезни кленового сиропа. Периодически в моче появляются кетокислоты с разветвленной цепью и аминокислоты; при этом моча приобретает характерный запах кленового сиропа. Во время приступов появляются неврологические симптомы (токсическая энцефалопатия); возможен летальный исход. Между приступами патологические явления могут отсутствовать, а выделение кетокислот и аминокислот с мочой может оставаться в пределах нормы. Приступы, по-видимому, провоцируются инфекциями и приемом пищи с высоким содержанием белка [123, 327, 444].

9. Валинтрансаминаза

Гипервалинемия

Содержание валина в крови повышено, резко усиливается выделение валина с мочой, что связано с замедлением развития и умственной отсталостью. По-видимому, при этом нарушении затронуто только переаминирование валина (фиг. 89). Переаминирование других аминокислот, например лейцина или изолейцина, не нарушено [123, 616, 654].

10. Изовалерилкофермент А-дегидрогеназа

Изовалериановая ацидемия

В крови и в моче присутствуют аномально большие количества изовалериановой кислоты вследствие нарушения превращения изовалерилкофермента А в β -метилкротонилкофермент А (фиг. 89). Периодические приступы ацидоза с развитием комы, по-видимому, провоцируемые инфекциями [90, 620].

11. Пролиноксидаза [L-пролин: НАД(Ф)—5-оксидоредуктаза] 1.5.1.2

Гиперпролинемия

Содержание пролина в сыворотке сильно повышается вследствие утраты способности превращать его в Δ^1 -пирролин-5-карбоксилат. Окисление оксипролина не нарушено. Однако отмечается усиленное выделение с мочой не только пролина, но также оксипролина и глицина, вероятно вследствие насыщения общей системы транспорта этих аминокислот в почечных канальцах избытком пролина (см. стр. 191). В некоторых

1. Сукцинатдегидрогеназа (сукцинат-лиаза)

13. Аргининосукцинолизин-лиаза (сукцинат-лиаза)
сукцинат — аргинин-лиаза
4.3.2.1

14. Аргининосукцинат-синтетаз (L-нитроулиаза: L-аспартат-лиаза (АМФ))
6.3.4.5

15. Орнитин — карбамоилтрансфераза
карбамоилфосфат: L-орнитин — карбамоилтрансфераза
2.1.3.3.

16. Ксантиноксидаза (ксантин-О₂ — оксидоредуктаза)
1.2.3.2

17. Восстановленный никотинадениндинуклеотид (НАД) оксидаза

В. ПР

НАД

12. Оксипролиноксидаза

случаях отмечались нарушения со стороны почек и умственная отсталость, однако не ясно, ■ какой мере они являются следствием данной аномалии обмена [150, 570].

Оксипролинемия

Содержание оксипролина ■ сыворотке и моче сильно повышается вследствие утраты способности превращать его ■ Δ' -пирролин-3-окси-5-карбоксилат. Обмен коллагена не нарушен, содержание пептидно-связанного оксипролина в моче в пределах нормы. Обмен пролина, по-видимому, не нарушен. Эта аномалия связана с резко выраженной умственной отсталостью [151].

13. Аргининосукциназа (аргининосукцинат-лиаза) (L-аргининосукцинат — аргинин-лиаза)

Аргининоянтарная ацидурия (стр. 166—168).

4.3.2.1

14. Аргининосукцинат-синтетаза (L-цитруллин: L-аспартат — лигаза (АМФ))

Цитруллинемия (стр. 168—169).

6.3.4.5

15. Орнитин — карбамоилтрансфераза (карбамоилфосфат: L-орнитин — карбамоилтрансфераза)

Гипераммониемия (стр. 168)

2.1.3.3.

В. ПРОЧИЕ РАССТРОЙСТВА

1. Ксантиноксидаза (ксантин: O_2 — оксидоредуктаза)*Ксантинурия*

Нарушено образование мочевой кислоты из ксантина, вследствие чего ксантин становится конечным продуктом обмена пуринов. Содержание мочевой кислоты ■ сыворотке и в моче резко снижается; с мочой выделяются аномально большие количества ксантина. Вследствие низкой растворимости ксантина часто образуются ксантиновые камни в мочевых путях [132, 153, 673].

2. Восстановленный никотинамид-адениндинуклеотид (НАД·Н)-оксидаза

Хроническая грануломатозная болезнь

Из-за недостаточности фермента ■ полиморфноядерных лейкоцитах они утрачивают способность уничтожать многие бактерии, которые они фагоцитируют. Развиваются длительные хронические инфекции, характеризующиеся нагноением и грануломатозным лимфаденитом, грануломатозными инфильтратами, особенно в легких, а также гепатоспленомегалией. Инфекции вызываются микроорганизмами, обладаю-

3. Сульфитоксидаза (сульфит:
O₂ — оксидоредуктаза)
1.8.3.1

4. Каталаза (H₂O₂ : H₂O₂ —
оксидоредуктаза)
1.11.1.6

5. Глутатионпероксидаза (глу-
татион: H₂O₂ — оксидоредук-
таза)

6. Метгемоглобинредуктаза
(НАД · Н: метгемоглобин—ок-
сидоредуктаза)

7. Оротидин-5'-фосфат — пиро-
фосфорилаза
(оротидин-5'-фосфат: пирофос-
фат — фосфорибозилтрансфе-
раза)
2.4.2.10

и
Оротидин-5'-фосфат — декар-
боксилаза
(оротидин-5'-фосфат — карбо-
ксилаза)
4.1.1.23

8. Глюкоцереброзидаза

9. Арилсульфатаза А
(арилсульфат — сульфогидро-
лаза)
3.1.6.1

0. Церамид — тригексозидаза

шими обычно низкой вирулентностью, на-
пример стафилококками, *Aerobacter aero-*
genes и *Klebsiella* sp. [24, 258].

Недостаточность сульфитоксидазы

Способность превращать сульфит в суль-
фат утрачена, что приводит к повышенному
образованию S-сульфо-L-цистеина и тио-
сульфата. Резко повышенные количества
S-сульфо-L-цистеина, сульфита и тиосуль-
фата в моче; неорганический сульфат
в моче отсутствует. Прогрессирующие
неврологические нарушения, эктопия хру-
сталика и умственная отсталость [451].

Акаталазия

Резкая недостаточность каталазы во всех
тканях. У некоторых индивидуумов отме-
чается изъязвление слизистой носа и рта,
иногда с резко выраженными гангренозны-
ми изменениями. В то же время у других
индивидуумов, у которых содержание ка-
талазы не достигает даже 1% нормы, не
отмечается никаких патологических явле-
ний [2, 3, 4, 323, 617, 618].

Недостаточность глутатионпероксидазы эритроцитов

Хроническая гемолитическая болезнь в
легкой форме [462].

Врожденная метгемоглобинемия (стр. 264)

Оротацидурия

Резко выраженная недостаточность двух
сопряженных ферментов, связанных с пре-
вращением оротовой кислоты в уридин-5'-
фосфат (фиг. 90). Наблюдается резкая за-
держка роста и развития, тяжелая мегало-
бластическая анемия и аномальное выде-
ление оротовой кислоты с мочой [168, 271,
280, 353, 385].

Болезнь Гоше (стр. 176—179)

Метахроматическая лейкодистрофия (см. 178)

Отложение церамидгалактозо-3-сульфата,
сопровождающееся прогрессирующей деге-
нерацией центральной нервной системы
[21, 302, 425].

Болезнь Фабри (angiokeratoma corporis dif- fusum) (стр. 178)

Отложение церамидтригексозида. Наблю-
даются поражения кожи (мелкие темные

Фиг. 90. Метаболичес-
кие ферменты

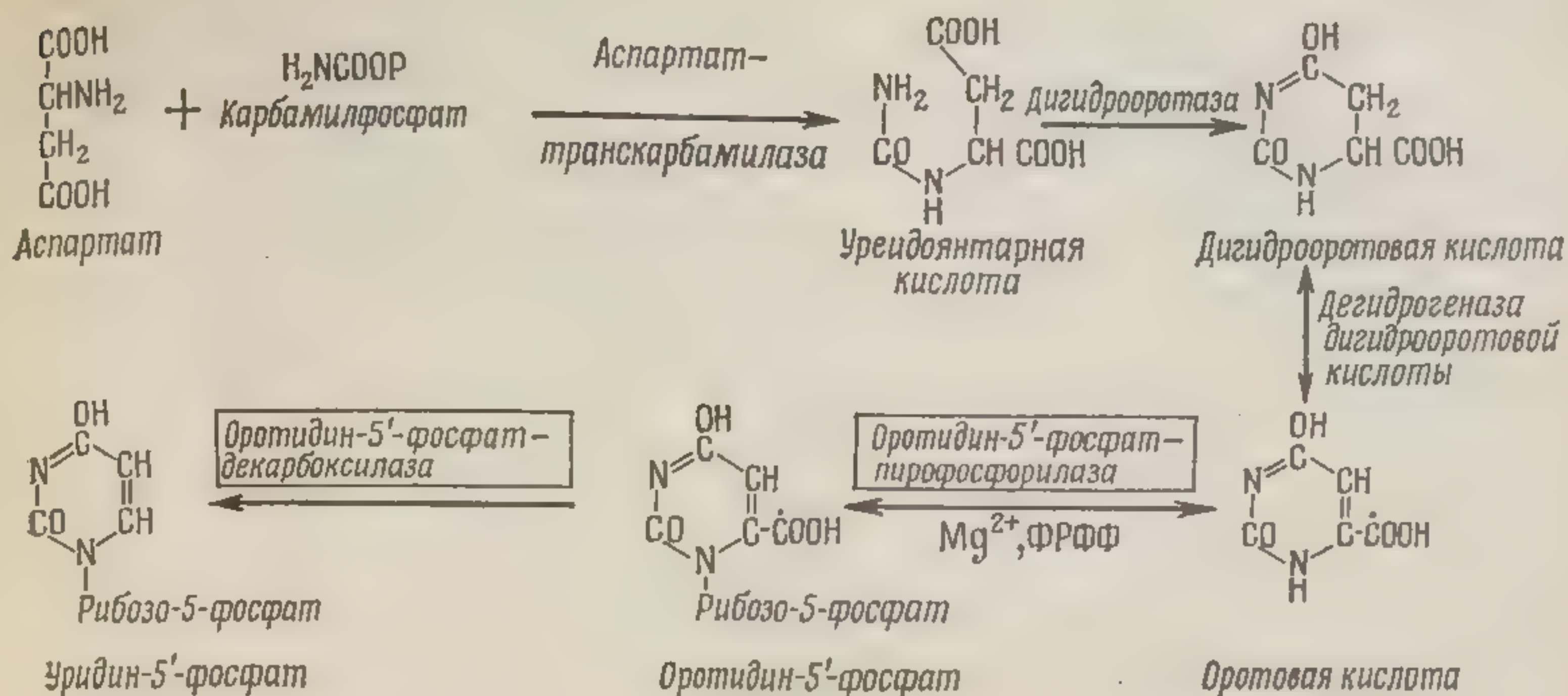
11. Сфингомиелиназа

12. «Кислая» β-галактозидаза

13. α-Фукозидаза

14. Сывороточная холинэ-
(псевдохоллинэстераза)
(ацилхолин — ацилг-
за)
3.1.1.8

15. Щелочная фосфатаза



Ф и г. 90. Метаболический путь биосинтеза уридин-5'-монофосфата. Указаны ферменты, затронутые при оротацидурии (в рамке) [699].

пурпурные пятна и папулы), глаз (помутнение роговицы, катаракта и отек сетчатки), а также сердечно-сосудистые, неврологические и желудочно-кишечные расстройства. Характерный симптом — сильная боль и ощущение жжения в конечностях. Нарушение сцеплено с X-хромосомой [77, 78, 478, 612, 692].

11. Сфингомиелиназа

Болезнь Нимана — Пика (стр. 178)

Отложение сфингомиелина. Прогрессирующая дегенерация центральной нервной системы, связанная с гепатоспленомегалией [81, 178, 583].

12. «Кислая» β-галактозидаза

Генерализованный ганглиозидоз (стр. 178, 180)

13. α-Фукозидаза

Фукозидоз (стр. 178)

14. Сывороточная холинэстераза (псевдохолинэстераза) (ацилхолин — ацилгидролаза) 3.1.1.8

Чувствительность к суксаметию (стр. 120—128)

15. Щелочная фосфатаза

Гипофосфатазия

Уровень щелочной фосфатазы в сыворотке резко понижен, что сопровождается аномалиями скелета вследствие нарушения процесса окостенения. Характерный симптом — усиленное выделение с мочой фосфоэтаноламина. Ферментная недостаточность отмечается в костях и хряще, а также, по-видимому, в печени и почках, но не в кишечнике. В разных семьях клинические проявления сильно различаются по

тяжести, что указывает на генетическую гетерогенность этого нарушения. В некоторых случаях тяжелые остеодистрофические изменения развиваются с самого рождения, ребенок погибает, не дожив до года. В других случаях развитие на ранних стадиях протекает, по всей видимости, нормально, но через несколько месяцев возникают аномалии скелета, напоминающие тяжелый рахит. Отмечается гипоплазия и преждевременное выпадение зубов. Наконец, известны случаи, когда аномалия распознается только у взрослого; у таких больных наблюдаются деформации костей и спонтанные переломы [116, 125, 177, 233, 516, 517, 518, 600].

16. Аденозинтрифосфатаза

Недостаточность АТФазы эритроцитов
Гемолитическая анемия, встречающаяся, по-видимому, у гетерозигот [242].

17. Панкреатическая липаза (гидролаза эфиров глицерина) 3.1.1.3

Врожденная недостаточность панкреатической липазы

Содержание липазы в кишечном соке сильно понижено (примерно 10% нормы), что приводит к утрате способности переваривать жиры. Около 50 ... 80% жиров, поступающих с пищей, выделяется с испражнениями (для этого нарушения характерен обильный маслянистый кал) [523, 571].

18. Кислая липаза

Болезнь Вольмана

Недостаточность кислой липазы (вероятно, липазы лизосом), при которой во внутренних органах обнаруживаются своеобразные «пенистые» клетки, содержащие большие количества триглицеридов и эфиров холестерина. Заболевание характеризуется ксантоматозом, обызвествлением надпочечников и гепатоспленомегалией [1, 488, 693].

19. Лецитин: холестерин — ацил-трансфераза

Семейная недостаточность эфиров холестерина

Содержание этерифицированного холестерина и α -липопротеида в сыворотке резко понижено, тогда как уровень общего холестерина, триглицеридов и фосфолипидов резко повышен.

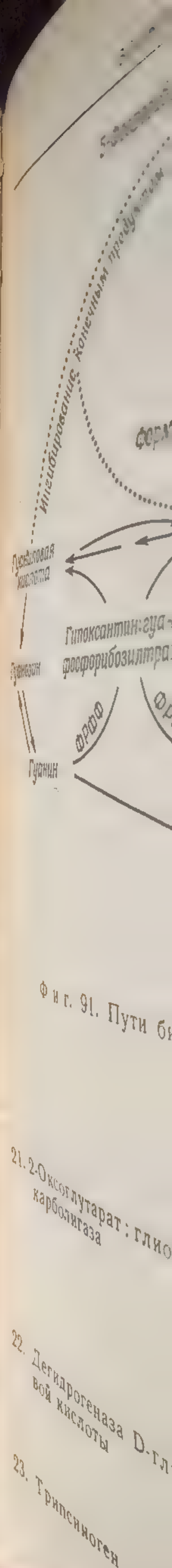
Сопутствующие симптомы — нормохромная анемия, протеинурия и выраженное помутнение роговицы [202, 222, 469, 470].

20. Гипоксантин: гуанин — фосфорибозилтрансфераза

а. Синдром Леша — Нихана (стр. 267—268)

б. Подагра, связанная с усиленным образованием мочевой кислоты (стр. 267—268)

Предполагается, что данный фермент участвует в метаболическом пути биосинтеза пуринов, как это представлено на фиг. 91.





Ф и г. 91. Пути биосинтеза и взаимопревращений пуринов [569].

Однако неизвестно, каким образом недостаточность этого фермента должна быть связана с повышением образования мочевой кислоты, характерным для данных синдромов.

21. 2-Оксоглутарат: глиоксилат—карболигаза

Первичная гипероксалурия (один из типов)

Повышенное выделение с мочой оксалата, гликолата и глиоксилата. В мочевых путях образуются оксалатные камни. Оксалат кальция может накапливаться также в почечной паренхиме (нефрокальциноз) и в других тканях (оксалоз) [14, 254, 347].

22. Дегидрогеназа D-глицериновой кислоты

Первичная гипероксалурия (один из типов)

Повышенное выделение с мочой оксалата и L-глицериновой кислоты. В мочевых путях образуются оксалатные камни [687].

23. Трипсиноген

Недостаточность трипсиногена

В дуоденальном соке отсутствует не только активность трипсина, но также активность химотрипсина и карбоксипептидазы. Это объясняется тем, что трипсин, образующийся из трипсиногена, необходим для

активации химотрипсина и прокарбоксипептидазы, которые образуются в нормальных количествах. Вследствие этого в двенадцатиперстной кишке и других отделах тонкого кишечника не происходит переваривания белков. Новорожденные с этим нарушением не растут, у них развивается прогрессирующая гипопроотеинемия, отечность и анемия. Хорошие результаты дает добавление к пище гидролизатов белка [636, 637].

24. Энтерокиназа (энтеропептидаза)
3.4.4.8

Недостаточность энтерокиназы

Недостаточность энтерокиназы выражается в утрате способности превращать трипсиноген, присутствующий в нормальных количествах, в трипсин. В отсутствие трипсина химотрипсиноген и прокарбоксипептидаза не могут превращаться в химотрипсин и карбоксипептидазу. Вследствие этого нарушено переваривание белков, так что картина заболевания идентична тому, что наблюдается при недостаточности трипсиногена (см. выше) [217].

Метилмалоновая ацидемия

25. Метилмалонил-КоА — карбонилмутаза
(метилмалонил-КоА — КоА-карбонилмутаза)
5.4.99.2

Метилмалонил-КоА — карбонилмутаза катализирует превращение L-метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА в присутствии кобаламиновой формы витамина B₁₂ в качестве кофермента. При недостаточности этого фермента нарушено образование сукцината из пропионата. Отмечается интенсивное выведение с мочой метилмалоновой кислоты. У детей при этом наблюдается резко выраженный кетоацидоз. Они отстают в развитии и рано умирают. Различают два типа этого нарушения. При одном из них благоприятно действуют массивные дозы витамина B₁₂, тогда как при другом такое лечение не дает эффекта [446, 474, 534].

Фермент или другой белок

1. Гемоглобин

2. Гаптоглобин

3. Трансферрин

4. Сывороточный α-глобулин (система Gc)

5. Иммуноглобулины
Тяжелые цепи (система Gm)

6. Иммуноглобулины
Легкие цепи (система Ip)

7. Сывороточные β-липопротеиды (система Ag)

8. Сывороточные β-липопротеиды (система Lp)

9. Церулоплазмин

10. Сывороточный ингибитор α₁-трипсина (система Pi)

11. Третий компонент комплемента (система C₃)

12. Сывороточный α₂-макроглобулин (система Xn)

13. Сывороточный кислый α-гликопротеин (оросеромукоид)

14. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

15. НАДФ — оксидоредуктаза [1.1.1.49 (локус PGM 1)]

Фосфоглюкомутаза (локус PGM 1)

30-1-фосфат: α-D-глюко-2-5-фосфат — трансфераза

Приложение II

ПОЛИМОРФИЗМ¹ ФЕРМЕНТНЫХ И ДРУГИХ БЕЛКОВ

Фермент или другой белок	Метод выявления	Источник данных
1. Гемоглобин	Электрофорез	Стр. 15—26, 223—224 книги
2. Гаптоглобин	Электрофорез	Стр. 79—87, 231—234 книги
3. Трансферрин	Электрофорез	[198, 587, 593]
4. Сывороточный α -глобулин (система Gc)	Иммуноэлектрофорез	[37, 250, 251, 525]
5. Иммуноглобулины Тяжелые цепи (система Gm)	Иммунологический (нейтрализация анти-тел)	[212, 213, 608]
6. Иммуноглобулины Легкие цепи (система Ipv)	Иммунологический (нейтрализация анти-тел)	[526, 530, 608]
7. Сывороточные β -липопротеиды (система Ag)	Иммунодиффузия ■ преципитация	[10, 63, 252, 253, 443]
8. Сывороточные β -липопротеиды (система Lp)	Иммунодиффузия и преципитация	[42, 43—45, 91, 93]
9. Церулоплазмин	Электрофорез	[579]
10. Сывороточный ингибитор α_1 трипсина (система Pi)	Электрофорез и иммуноэлектрофорез	[163—167]
11. Третий компонент комплемента (система C'3)	Электрофорез	[11, 22]
12. Сывороточный α_2 -макроглобулин (система Xn)	Иммунодиффузия и преципитация	[46, 47]
13. Сывороточный кислый α_1 -гликопротеид (оросеромукоид)	Электрофорез	[552, 553]
14. Глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназа [D-глюкозо-6-фосфат : НАДФ — оксидоредуктаза] 1.1.1.49	Количественное определение и электрофорез	Стр. 131—139, 230—231 книги
15. Фосфоглюкомутаза (локус PGM ₁) [α -D-глюкозо-1,6-дифосфат : α -D-глюкозо-1-фосфат — фосфотрансфераза] 2.7.5.1	Электрофорез	Стр. 59—66, 234 книги

16. Фосфоглюкомутаза (локус PGM_3)	Электрофорез	Стр. 63—66, 234 книги
17. Щелочная фосфатаза плаценты	Электрофорез	Стр. 44—46 книги
18. Сывороточная холин-эстераза (локус E_1) (ацилхолин — ацил-гидролаза) 3.1.1.8.	Количественные тесты на ингибирование	Стр. 120—130 книги
19. Сывороточная холин-эстераза (локус E_2)	Электрофорез	Стр. 130—131 книги
20. Пептидаза А (дипептидаза)	Электрофорез	Стр. 41—44 книги
21. Ацетилтрансфераза печени	Проба с нагрузкой (изониазид)	Стр. 196—199 книги
22. Кислая фосфатаза эритроцитов	Электрофорез	Стр. 144—150 книги
23. Аденилаткиназа (АТФ : АМФ — фосфотрансфераза) 2.7.4.3	Электрофорез	[67, 170, 515]
24. Аденозиндезаминаза (аденозин — аминоксигидролаза) 3.5.4.4	Электрофорез	[603]
25. Фосфоглюконатдегидрогеназа [(6-фосфо-D-глюконат : НАДФ — оксидоредуктаза (декарбоксилирующая)] 1.1.1.44	Электрофорез	[98, 171, 484]
26. Никотинамидадениндинуклеотид — нуклеозидаза (НАДаза) эритроцитов (НАД — гликогидролаза) 3.2.2.5	Количественное определение	[467]
27. Галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза (вариант Дурте) [УДФ-глюкоза : α -D-галактозо-1-фосфат — уридил-трансфераза] 2.7.7.12	Количественное определение и электрофорез	[51, 52, 424]
28. Глутатионредуктаза	Электрофорез	[400]
29. Панкреатическая амилаза	Электрофорез	[319]
30. Пептидаза D (пролидаза)	Электрофорез	[384]

¹ Имеются в виду ситуации, при которых два или более аллелей, определяющих каждый отдельный структурный вариант данного белка, встречаются в одной или нескольких главных популяциях человека с частотой, превышающей 0,01.

1. Abramov A., Schorr injection of triple an 282 (1956).
2. Aebi H., The investi ference to acatalasia, Press, Baltimore, p.
3. Aebi H., Baggiolini M. Observations in two 4, 121 (1964).
4. Aebi H., Bossi E., Can zerland. In: «Heredita ler. Grune a. Stratton
5. Ager J. A. M., Lehman J. N and «Bart's». Bri
6. Ager J. A. M., Lehman globin found in an En
7. Allan Z. D., Custworth hereditary, characteris abnormality of aminoa
8. Allison A. C., Protecti malarial infection, Bri
9. Allison A. C., Polym Cold Spring Harbor Sy
10. Allison A. C., Blumbe man serum protein ty
11. Alper C. A., Propp R. human complement (C
12. Andersen D. H., Famil cogen, Lab. Invest. 5,
13. Appella E., Markert nits with guanidine hy (1961).
14. Archer H. E., Dormer roxaluria, Lancet, 2, 3
15. Armstrong M. D., Roh phenylketonuria, Arch
16. Armstrong M. D., Sha ria, II. The excretion Biol. Chem. 213, 797
17. Armstrong M. D., nylalanine intai Arrow V. K. (London)

ЛИТЕРАТУРА

1. Abramov A., Schorr S., Wolman M., Fatal exfoliative dermatitis following injection of triple antigen and Salk vaccine, *Am. J. Diseases Children*, 91, 282 (1956).
2. Aebi H., The investigation of inherited enzyme deficiencies with special reference to acatalasia, *Proc. Third Int. Congr. Human Genetics*, Johns Hopkins Press, Baltimore, p. 189 (1967).
3. Aebi H., Baggiolini M., Dewald B., Lauber E., Suter H., Micheli A., Frei J., Observations in two Swiss families with acatalasia, *Enzymol. Biol. Clin.*, 4, 121 (1964).
4. Aebi H., Bossi E., Cantz M., Matsubara S., Suter H., Acatalas(em)ia in Switzerland. In: «Hereditary disorders of erythrocyte metabolism», ed. E. Beutler. Grune & Stratton, New York (1968).
5. Ager J. A. M., Lehmann H., Observations on some «fast» haemoglobins: K, J, N and «Bart's». *Brit. Med. J.*, 1, 929 (1958).
6. Ager J. A. M., Lehmann H., Vella F., Haemoglobin «Norfolk»: a new haemoglobin found in an English family, *Brit. Med. J.*, 2, 529 (1958).
7. Allan Z. D., Cusworth D. L., Dent C. E., Wilson V. D., A disease, probably hereditary, characterised by severe mental deficiency and a constant gross abnormality of aminoacid metabolism, *Lancet*, 1, 182 (1958).
8. Allison A. C., Protection afforded by the sickle cell trait against subtertian malarial infection, *Brit. Med. J.*, 1, 290 (1954).
9. Allison A. C., Polymorphism and natural selection in human populations. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 29, 137 (1964).
10. Allison A. C., Blumberg B., An isoprecipitation reaction distinguishing human serum protein types, *Lancet*, 1, 634 (1961).
11. Alper C. A., Propp R. P., Genetic polymorphism of the third component of human complement (C'3). *J. Clin. Invest.*, 47, 2181 (1968).
12. Andersen D. H., Familial cirrhosis of the liver with storage of abnormal glycogen, *Lab. Invest.*, 5, 11 (1956).
13. Appella E., Markert C. L., Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guanidine hydrochloride, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 6, 171 (1961).
14. Archer H. E., Dormer A. E., Scowen E. F., Watts R. W. E., Primary Hyperoxaluria, *Lancet*, 2, 320 (1957).
15. Armstrong M. D., Robinson K. S., On the excretion of indole derivatives in phenylketonuria, *Arch. Biochem.*, 52, 287 (1954).
16. Armstrong M. D., Shaw K. N. F., Robinson K. S. Studies on phenylketonuria, II. The excretion of *o*-hydroxyphenylacetic acid in phenylketonuria, *J. Biol. Chem.*, 213, 797 (1955).
17. Armstrong M. D., Tyler F. H., Studies on phenylketonuria, I. Restricted phenylalanine intake in phenylketonuria, *J. Clin. Invest.*, 34, 565 (1955).
18. Arrow V. K., Westall R. G., Aminoacid clearances in cystinuria, *J. Physiol. (London)*, 142, 141 (1953).

19. Auerbach V. H., Digeorge A. M., Carpenter G. C., Phenylalaninemia. In: Amino acid metabolism and genetic variation, ed. W. L. Nyhan. McGraw Hill, New York (1967).
20. Auerbach V. H., Digeorge A. M., Baldrige R. C., Tourtellotte C. D., Brigham M. P., Histidinemia, A deficiency in histidase resulting in the urinary excretion of histidine and of imidazolepyruvic acid, *J. Pediat.*, 60, 487 (1962).
21. Austin J., Balasubramanian A., Pattabiraman T., Sarswathi S., Basu D., Bachhawat B., A controlled study of enzymic activities in three human disorders of glycolipid metabolism, *J. Neurochem.*, 10, 805 (1963).
22. Azen E. A., Smithies O., Genetic polymorphism of C'3 (β 1C-globulin) in human serum, *Science*, 162, 905 (1968).
23. Azevedo E., Kirkman H. N., Morrow A. C., Motulsky A. G., Variants of red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase among Asiatic Indians, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 31, 375 (1968).
24. Baehner R. L., Karnovsky M. L., Deficiency of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide oxidase in chronic granulomatous disease, *Science*, 162, 1277 (1968).
25. Baglioni C., The fusion of two polypeptide chains in haemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 48, 1880 (1962a).
26. Baglioni C., A chemical study of hemoglobin Norfolk, *J. Biol. Chem.*, 237, 69 (1962b).
27. Baglioni C., A child homozygous for persistence of foetal haemoglobin, *Nature (Lond.)*, 198, 1117 (1963).
28. Baglioni C., Ingram V. M., Four adult haemoglobin types in one person, *Nature (Lond.)*, 189, 465 (1961).
29. Bank A., Marks A., Excess α -chain synthesis relative to chain synthesis in thalassaemia major and minor, *Nature (Lond.)*, 212, 1198 (1966).
30. Barcroft H., Gibson Q., Harrison D., McMurray J., Familial idiopathic methaemoglobinaemia and its treatment with ascorbic acid, *Clin. Sci.*, 5, 145 (1945).
31. Bargellesi A., Pontremoli S., Conconi F., Absence of β -globin synthesis and excess of α -globin synthesis in homozygous β -thalassaemia, *Europ. J. Biochem.*, 1, 73 (1967).
32. Barnabas J., Muller C. J., Haemoglobin Lepore (Hollandia), *Nature (Lond.)*, 194, 931 (1962).
33. Barnes H. D., Porphyrin in South Africa: the faecal excretion of porphyrin, *S. African Med. J.*, 32, 680 (1958).
34. Baron D. N., Dent C. E., Harris H., Hart E. W., Jepson J. B., Hereditary pellagra-like skin rash with temporary cerebellar ataxia, constant renal aminoaciduria, and other bizarre biochemical features, *Lancet*, 2, 421 (1956).
35. Baudhuin P., Hers H. G., Loeb H., An electron microscopic and biochemical study of type II glycogenosis, *Lab. Invest.*, 13, 1140 (1964).
36. Baughan M. A., Valentine W. N., Paglia M. D., Ways P. O., Simon E. R., De Marsh Q. B., Hereditary hemolytic anemia associated with glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency — a new enzyme defect of human erythrocytes, *Blood*, 32, 236 (1968).
37. Bearn A. F., Bowman B. H., Kitchin F. D., Genetical and biochemical considerations of the serum group-specific component, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 29, 435 (1964).
38. Beet E. A., The genetics of sickle cell trait in a Bantu tribe, *Ann. Eugenics*, 14, 279 (1949).
39. Bell J. C., Riemensnyder D. K., Use of a serum microbiologic assay technique for estimating patterns of isoniazid metabolism, *Ann. Rev. Tuberc.*, 75, 995 (1957).
40. Benesch R., Benesch R. E., Tuuma I., Subunit exchange and ligand binding, II. The mechanism of the allosteric effect in hemoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 56, 1268 (1966).

41. Beretta A., Prato V., Gallo E., Lehmann H., Haemoglobin Torino — $\alpha 43$ (CDI) phenylalanine \rightarrow valine, *Nature (Lond.)*, 217, 1016 (1968).
42. Berg K., A new serum type system in man — the Lp system, *Acta pathol. Microbiol. Scand.*, 59, 369 (1963).
43. Berg K., A new serum type system in man — the Ld system, *Vox Sanguinis*, 10, 513 (1965).
44. Berg K. Further studies on the Lp system, *Vox Sanguinis*, 11, 419 (1966).
45. Berg K., The Lp system, *Series Haematologica*, 1, 111 (1968).
46. Berg K., Bearn A. G., An inherited X-linked serum system in man, The Xm System, *J. Expl. Med.*, 123, 379 (1966).
47. Berg K., Bearn A. G., Human serum protein polymorphisms, *Am. Rev. Genet.*, 2, 341 (1968).
48. Berman J. L., Cunningham G. C., Day R. W., Ford R., Hsia D.Y.Y., Causes for high phenylalanine with normal tyrosine, *Am. J. Diseases Children*, 117, 54 (1969).
49. Berry H., Sutherland B. S., Guest G. M., Phenylalanine tolerance tests on relatives of phenylketonuric children, *Am. J. Human Genet.*, 8, 310 (1957).
50. Beutler E., Baluda M. C. The separation of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient erythrocytes from the blood of heterozygotes for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, *Lancet*, 1, 189 (1964).
51. Beutler E., Baluda M. C., Sturgeon P., Day R., A new genetic abnormality resulting in galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency, *Lancet*, 1, 353 (1965).
52. Beutler E., Baluda M. C., Sturgeon P., Day R. The genetics of galactose-1-phosphate uridyl transferase deficiency, *J. Lab. Clin. Med.*, 64, 646 (1966).
53. Beutler E., Mathai C. K., Smith J. E., Biochemical variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase giving rise to congenital non spherocytic hemolytic disease, *Blood*, 31, 131 (1968).
54. Beutler E., Yeh M., Fairbanks V. F., The normal human female as a mosaic of X chromosome activity: studies using the gene for G-6-PD deficiency as a marker, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 48, 9 (1962).
55. Bhende Y., Desphande C. K., Bhatia H. M., Sanger R., Race R. R., Morgan W. T. J., Watkins W. M., A 'new' blood group character related to the ABO system, *Lancet*, 1, 903 (1952).
56. Bianco A., Zinkham W. H., Lactate dehydrogenases in human testes, *Science*, 139, 601 (1963).
57. Bianco I., Montalenti G., Silvestroni E., Siniscalco M., Further data on genetics of microcythaemia or thalassaemia minor and Cooley's disease or thalassaemia major, *Ann. Eugenics (Lond.)*, 16, 299 (1952).
58. Bianco A., Zinkham W. H., Kupchik L., Genetic control and ontogeny of lactate dehydrogenase in pigeon testes, *J. Exptl. Zool.*, 156, 137 (1964).
59. Bigley R. H., Koler R. D., Liver pyruvate kinase (PK) isozymes in a PK-deficient patient, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 31, 383 (1968).
60. Bigley R. H., Stenzel P., Jones R. T., Campos J. O., Koler R. D., Tissue distribution of human pyruvate kinase isozymes, *Enzymol. Biol. Clin.*, 9, 10 (1968).
61. Black J. A., Dixon G. H., Aminoacid sequence of alpha chains of human haemoglobins, *Nature (Lond.)*, 218, 736 (1968).
62. Black J. A., Simpson K., Fructose intolerance, *Brit. Med. J.*, 4, 138 (1967).
63. Blumberg B. S., Bernanke D., Allison A. C., A human lipoprotein polymorphism, *J. Clin. Invest.*, 41, 1936 (1962).
64. Boivin P., Galand C., Constant de Michaelis anormale pour le phospho-énol-pyruvate au cours d'un déficit en puruvate-kinase erythrocytaire, *Rev. Franc. Etudes Clin. Biol.*, 12, 372 (1967).
65. Bookchin R. M., Nagel R. L., Ranney H. M., Structure and properties of Hb C Harlem, a human haemoglobin variant with aminoacid substitutions in two residues of the β -polypeptide chain, *J. Biol. Chem.*, 242, 248 (1967).

66. Bourne J. G., Collier H. O. J., Somers G. F., Succinylcholine (succinoylcholine), Muscle relaxant of short action, *Lancet*, 1, 1225 (1952).
67. Bowman E., Frischer H., Ajmar F., Carson P., Gower M. K., Population, family and biochemical investigation of human adenylate kinase polymorphism, *Nature (Lond.)*, 214, 1156 (1967).
68. Bowman H. S., Procopio F., Hereditary non-spherocytic haemolytic anaemia of the pyruvate kinase deficient type, *Ann. Internal Med.*, 58, 567 (1963).
69. Boyer S. H., Alkaline phosphatase in human sera and placental, *Science*, 134, 1002 (1961).
70. Boyer S. H., Fainer D. C., Watson-Williams E. J., Lactate dehydrogenase variant from human blood: evidence for molecular subunits, *Science*, 141, 642 (1963).
71. Boyer S. H., Hathaway P., Garrick M. D., Modulation of protein synthesis in man: an in vitro study of haemoglobin synthesis by heterozygotes, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 29, 333 (1964).
72. Boyer S. H., Porter I. H., Wielbacher R. J., Electrophoretic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and its relationship to enzyme deficiency in man, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 48, 1868 (1962).
73. Bradley T. B., Boyer S. H., Allen F. H., Hopkins-2-hemoglobin: a revised pedigree with data on blood and serum groups, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 108, 75 (1961).
74. Bradley T. B. Jr., Brawner J. N. III, Conley C. L., Further observations on an inherited anomaly characterised by persistence of fetal hemoglobin, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 108, 242 (1961).
75. Bradley T. B. Jr., Wohl R. C., Rieder R. F., Hemoglobin Gun Hill: deletion of five amino acid residues and impaired heme-globin binding, *Science*, 157, 1581 (1967).
76. Brady R. O., Enzymatic defects in the sphingolipidoses, *Advan. Clin. Chem.*, 11, 1 (1968).
77. Brady R. O., Gal A. E., Bradley R. M., Martensson E., The metabolism of ceramidetrihexosides. I. Purification and properties of an enzyme that cleaves the terminal galactose molecule of galactosylgalactosylglucosylceramide, *J. Biol. Chem.*, 242, 1021 (1967a).
78. Brady R. O., Gal A. E., Bradley R. M., Martensson E., Warshaw A. L., Laster L., Enzymatic defect in Fabry's disease, Ceramidetrihexosidase deficiency, *New Engl. J. Med.*, 276, 1163 (1967b).
79. Brady R. O., Kanfer J. N., Mock M. B., Frederickson D. S., The metabolism of sphingomyelin, II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-Pick disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 55, 366 (1966a).
80. Brady R. O., Kanfer J. N., Shapiro D., The metabolism of glycosphingolipids, II. Evidence of an enzymatic deficiency in Gaucher's disease, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 18, 221 (1965).
81. Brady R. O., Kanfer J. N., Shapiro D., Bradley R. M., Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase in Gaucher's disease, *J. Clin. Invest.*, 45, 1112 (1965b).
82. Brancati C., Baglioni C., Homozygous $\beta\delta$ -thalassaemia ($\beta\delta$ -microcythaemia), *Nature (Lond.)*, 212, 262 (1966).
83. Braunitzer J., Hilse K., Rudolff V., Hilschmann N., The haemoglobins, *Advan. Protein Chem.*, 19, 1 (1964).
84. Braverman A. S., Bank A., Changing rates of globin chain synthesis during erythroid cell maturation in thalassaemia, *J. Mol. Biol.*, 42, 57 (1969).
85. Bremer H. G., Neumann W., Tolerance of phenylalanine after intravenous administration in phenylketonurics, heterozygous carriers, and normal adults, *Nature (Zond.)*, 209, 1148 (1966).
86. Brenton D. P., Cusworth D. C., Dent C. E., Jones E. E., Homocystinuria, Clinical and dietary studies, *Quart. J. Med.*, XXXV, 325 (1966).
87. Brewer G. J., Achromatic regions of tetrazolium stained starch gels: inherited electrophoretic variation, *Am. J. Human Genet.*, 19, 674 (1967).

88. *Brewer G. J., Eaton J. W., Knutsen C. S., Beck C. C.*, A starchgel electrophoretic method for the study of diaphorase isozymes and preliminary results with sheep and human erythrocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 29, 198 (1967).
89. *Brown B. I., Brown D. H.*, Lack of an α -1, 4-glucan: α -1 4-glucan 6-glycosyl transferase in a case of Type IV glycogenosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 56, 725 (1966).
90. *Budd M. A., Tanaka K., Holmes L. B., Efron M. L., Crawford Z. D., Isselbacher K. J.*, Isovaleric acidemia, Clinical features of a new genetic defect of leucine metabolism, *New Engl. J. Med.*, 277, 321 (1967).
91. *Bundschuh G., Vogt A.*, Die Häufigkeit des Merkmals Lp(x) in der Berliner Bevölkerung, *Humangenetik*, 1, 379 (1965).
92. *Burns J. J.*, Missing step in man, monkey and guinea-pig required for biosynthesis of L-ascorbic acid, *Nature (Lond.)*, 180, 553 (1957).
93. *Büttler R.*, Polymorphisms of the human low-density lipoproteins, *Vox Sanguinis*, 12, 2 (1967).
94. *Cahn R. D., Kaplan N. O., Levine L., Zwilling E.*, Nature and development of lactic dehydrogenases, *Science*, 136, 962 (1962).
95. *Carrell R. W., Lehmann H., Hutchison H. E.* Haemoglobin Köln (β -98 Valine \rightarrow Methionine): an unstable protein causing inclusion-body anaemia, *Nature (Lond.)*, 210, 915 (1966).
96. *Carson N.A.J., Dent C. E., Fiel C.M.B., Gaull J. E.*, Homocystinuria, Clinical and pathological review of ten cases, *J. Pediat.*, 66, 565 (1965).
97. *Carson P. E., Flanagan C. L., Ickes C. E., Alving A. S.*, Enzymatic deficiency in primaquine sensitive erythrocytes, *Science*, 124, 484 (1956).
98. *Carter N. D., Fildes R. A., Fitch L. I., Parr C. W.*, Genetically determined electrophoretic variations of human phosphogluconate dehydrogenase, *Acta Genet.*, 18, 109 (1968).
99. *Ceppellini R.*, Nuova interpretazione sulla genetica dei caratteri Lewiseritrocitari e salivari derivante dall'analisi di 87 famiglie, *Ric. Sci., Suppl.*, 25, 3 (1955).
100. *Ceppellini R.* In: *Biochemistry of human genetics*, Ciba Foundation Symposium, ed. G.E.W. Wolstenholme and C. M. O'Connor, p. 133, Churchill, London (1959).
101. *Chambers R. A., Pratt R. T. C.*, Idiosyncrasy to fructose, *Lancet*, 2, 340 (1956).
102. *Childs B., Zinkham W., Brown E. A., Kimbro E. L., Torbet J. V.*, A genetic study of a defect in glutathione metabolism of the erythrocyte, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 102, 21 (1958).
103. *Clark S. W., Glaubiger J. A., La Du B.N.*, Properties of plasma cholinesterase variants, *Am. N.Y. Acad. Sci.*, 151, 710 (1968).
104. *Clegg J. B., Weatherall D. Z., Na-Na-korn S., Wasi P.*, Haemoglobin synthesis in β -thalassaemia, *Nature (Lond.)*, 220, 664 (1968).
105. *Clete H., Cordon S., Bowman B. H., Bearn A. G.*, Comparison of the tryptic peptides and amino acid composition of the beta polypeptide chains of the three common haptoglobin phenotypes, *Am. J. Human Genet.*, 19, 713 (1967).
106. *Comings D. E., Motulsky A. G.*, Absence of cis delta chain synthesis in ($\delta\beta$) thalassaemia (F-thalassaemia), *Blood*, 28, 54 (1966).
107. *Conley C. L., Weatherall D. Z., Richardson S. N., Shepherd M. K., Charache C.*, Hereditary persistence of fetal hemoglobin: a study of 79 affected persons in 15 Negro families in Baltimore, *Blood*, 21, 261 (1963).
108. *Connell J. E., Dixon G. H., Smithies O.*, Subdivision of the three common haptoglobin types based on hidden differences, *Nature (Lond.)*, 193, 505 (1962).
109. *Connell G. E., Smithies O., Dixon G. H.*, Gene action in the human haptoglobins. II. Isolation and physical characterisation of alpha polypeptide chains, *J. Mol. Biol.*, 21, 225 (1966).
110. *Cori G. T.*, Glycogen structure and enzyme deficiencies in glycogen storage diseases, *Harvey Lectures, Ser.*, 48, p. 145 (1954).

111. Cori G. T., Biochemical aspects of glycogen deposition diseases, *Mod. Probl. Pediat.*, 3, 344 (1957).
112. Cori G. T., Cori C. F., Glucose-6-phosphatase of the liver in glycogen storage disease, *J. Biol. Chem.*, 199, 661 (1952).
113. Cote R. H., Morgan W. T. J., Some nitrogen-containing disaccharides isolated from human blood-group A substances, *Nature (London)*, 178, 1171 (1956).
114. Court-Brown W. M., Smith P. G., Human population cytogenetics, *Brit. Med. Bull.*, 25, 74 (1969).
115. Crick F.H.C., The genetic code, *Proc. Roy. Soc., B* 167, 331 (1967).
116. Currarino J., Newhauser E., Reyersback G., Sobel E., Hypophosphatasia, *Am. J. Roentgenol.*, 78, 392 (1957).
117. Curtain C. C., A structural study of abnormal haemoglobins occurring in New Guinea, *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.*, 42, 89 (1964).
118. Dacie J. V., Shinton N. K., Gaffney P. J., Carrell R. W., Lehmann H., Haemoglobin Hammersmith ($\beta 42(\text{CD}1)$ Phe \rightarrow Ser). *Nature (Lond.)*, 216, 663 (1967).
119. Dacremont G., Kint J. A., Gm_1 -ganglioside accumulation and β -galactosidase deficiency in a case of Gm_1 gangliosidosis (Landing disease), *Clin. Chim. Acta*, 21, 421 (1968).
120. Dancis J., Hutzler J., Levitz M., The diagnosis of maple syrup urine disease (branch chain ketoaciduria) by the in vitro study of the peripheral leucocyte, *Pediatrics*, 32, 234 (1963).
121. Dancis J., Levitz M., Miller S., Westall R. G., Maple syrup urine disease, *Brit. Med. J.*, 1, 91 (1959).
122. Dancis J., Hutzler J., Levitz M., Detection of the heterozygote in maple syrup urine disease, *J. Pediat.*, 66, 595 (1965).
123. Dancis J., Hutzler J., Tada K., Wada Y., Morikawa T., Arakawa T., Hypervalinemia, A defect in valine transamination, *Pediatrics*, 39, 813 (1967).
124. Dancis J., Hutzler J., Rokkones T., Intermittent branched-chain ketonuria, *New Engl. J. Med.*, 276, 84 (1967).
125. Danovitch S. H., Baer P. N., Laster L., Intestinal alkaline phosphatase activity in familial hypophosphatasia, *New Engl. J., Med.*, 273, 1253 (1968).
126. Davidson R. G., Cortner J. A., Genetic variant of human erythrocyte malate dehydrogenase, *Nature (Lond.)*, 215, 761 (1967a).
127. Davidson R. G., Cortner J. A., Mitochondrial malate dehydrogenase: ■ new genetic polymorphism in man, *Science*, 157, 1569 (1967b).
128. Davidson R. G., Fildes R. A., Glen-Bott A. M., Harris H., Robson E. B., Cleg-horn T. E., Genetical studies on a variant of human lactate dehydrogenase (subunit A), *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 29, 5 (1965).
129. Davidson R. G., Nitowsky J. M., Childs B., Demonstration of two populations of cells in the human female heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase variants, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 50, 481 (1963).
130. Davies R. O., Marton A. V., Kalow W., The action of normal and atypical cholinesterase of human serum upon a series of esters of choline, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 38, 545 (1960).
131. Dean G., The porphyrias: a story of inheritance and environment, Pitman, London (1963).
132. Dent C. E., Philpot G. R., Xanthinuria, an inborn error (or deviation) of metabolism, *Lancet*, 1, 182 (1954).
133. Dent C. E., Rose G. A., Aminoacid metabolism in cystinuria, *Quart. J. Med.*, 20, 205 (1951).
134. Dent C. E., Senior B., Studies on the treatment of cystinuria, *Brit. J. Urol.*, 27, 317 (1955).
135. Dent C. E., Senior B., Walshe J. M., The pathogenesis of cystinuria, II. Polarographic studies of the metabolism of sulphur-containing aminoacids, *J. Clin. Invest.*, 33, 1216 (1954).

136. *Dern R. J., McCurdy P. R., Yoshida A.*, A new structural variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase with a high production rate (G6PD Hektoen), *J. Lab. Clin. Med.*, 73, 283 (1969).
137. *Dern R. J., Weinstein I. M., Leroy G. Y., Talmage D. W., Alving A. S.*, The hemolytic effect of primaquine, I. The localization of the drug-induced hemolytic defect in primaquine sensitive individuals, *J. Lab. Clin. Med.*, 43, 303 (1954).
138. *Detter J. C., Ways P. O., Giblett E. R., Baughan M. A., Hopkinson D. A., Povey S., Harris H.*, Inherited variations in human phosphohexose isomerase, *Ann. Hum. Genet., Lond.*, 31, 329 (1968).
139. *Devadatta S., Gangadharam P. R., Andrews R. H., Fox W., Remakrishnan C. V., Selkon J. B., Velu S.*, Peripheral neuritis due to isoniazid, *Bull. World Health Org.*, 23, 587 (1960).
140. *Dixon G. H.*, Mechanisms of protein evolution, *Essays in Biochemistry*, 2, 147, Academic Press, New York (1966).
141. *Doenicke A., Gartner T., Krenzberg G., Remes I., Spiess W., Steinhereithner K.*, Serum cholinesterase anenzymia, *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 7, 59 (1963).
142. *Donnell G. N., Bergren W. R., Bretthauer R. K., Hansen R. G.*, The enzymatic expression of heterozygosity in families of children with galactosemia, *Pediatrics*, 25, 572 (1960).
143. *Doolan P. D., Harper H. A., Hutchin M. E., Alpen E. L.*, Renal clearance of lysine in cystinuria, *Am. J. Med.*, 23, 416 (1957).
144. *Dowdle E. B., Mustard P., Eales L.*, δ -aminolaevulinic acid synthetase activity in normal and porphyric human livers, *S. African Med. J.*, 41, 1093 (1967).
145. *Duma H., Efremov G., Sadikario A., Teodosijev D., Mladenovski B., Vlaski R., Andreeva M.*, Study of nine families with haemoglobin-Lepore, *Brit. J. Haematol.*, 15, 161 (1968).
146. *De Duve C.*, The lysosome concept. In: *CIBA Foundation Symposium on Lysosomes*, Churchill, London (1963).
147. *Edington G. M., Lehmann H.*, Haemoglobin G: a new haemoglobin found in a West African, *Lancet*, 2, 173 (1954).
148. *Edington G. M., Lehmann H.*, Expression of the sickle cell gene in Africa, *Brit. Med. J.*, 1, 1308 and 2, 1328 (1955).
149. *Edington G. M., Watson-Williams E. J.*, Sickling, Haemoglobin C, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria in Western Nigeria, In: *Abnormal haemoglobins in Africa*, ed. J.H.P. Jonxis, Blackwell, Oxford (1961).
150. *Efro M. L.*, Familial hyperprolinemia, Report of ■ second case, associated with congenital renal malformations, hereditary hematuria and mild mental retardation, with demonstration of an enzyme defect, *New Engl. J. Med.*, 272, 1243 (1965).
151. *Efro M. L.*, Hydroxyprolinemia, II. A rare metabolic disease due to a deficiency of the enzyme «hydroxyproline oxidase». *New Engl. J. Med.*, 272, 1299 (1965).
152. *Efro M. L.*, Diseases of the urea cycle, In: *The metabolic basis of inherited disease*, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson., McGraw-Hill, New York (1966).
153. *Engleman K., Watts R. W. E., Klinenberg J. R., Sjoerdsma A., Seegmiller J. E.*, Clinical, physiological and biochemical studies of a patient with xanthinuria and pheochromocytoma, *Am. J. Med.*, 37, 839 (1964).
154. *Encklewitz M., Lasker M.*, The origin of L-xyloketose (urine pentose), *J. biol. Chem.*, 110, 44 (1935).
155. *Epstein C. J., Schechter A. N.*, An approach to the problem of conformational isozymes, *Ann. New York Acad. Sci.*, 151, 85 (1968).
156. *Evans D. A. P.*, Pharmacogenetics, *Am. J. Med.*, 34, 639 (1963).
157. *Evans D. A. P., Clarke C. A.*, Pharmacogenetics, *Brit. Med. Bull.*, 17, 234 (1961).

158. Evans D. A. P., Davidson K., Pratt R. T. C., The influence of acetylator phenotype on the effect of treating depression with phenelzine, *Clin. Pharmacol. Therap.*, 6, 430 (1965).
159. Evans D. A. P., Manley K. E., McKusick V. A., Genetic control of isoniazid metabolism in man, *Brit. Med. J.*, 2, 485 (1960).
160. Evans D. A. P., Storey P. B., McKusick V. A., Further observations on the determination of the isoniazid inactivator phenotype, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 108, 6) (36 .
161. Evans D. A. P., White T. A., Human acetylation polymorphism, *J. Lab. Clin. Med.*, 63, 394 (1964).
162. Evans F. T., Gray P. W. S., Lehmann H., Silk E., Sensitivity to succinylcholine in relation to serum cholinesterase, *Lancet*, 1, 1229 (1952).
163. Fagerhol M. K., Serum Pi types in Norwegians, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 70, 421 (1967).
164. Fagerhol M. K., The Pi system: genetic variants of serum α_1 antitrypsin, *Series Haematologica*, 1, 153 (1968).
165. Fagerhol M. K., Quantitative studies on the inherited variants of serum α antitrypsin, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 23, 97 (1969).
166. Fagerhol M. K., Braend M., Serum prealbumin: polymorphism in man, *Science*, 149, 986 (1965).
167. Fagerhol M. K., Laurell C. B., The polymorphism of «prealbumins» and α_1 -antitrypsin in human sera, *Clin. Chim. Acta*, 16, 199 (1967).
168. Fallon H. J., Smith L. H., Graham J. B., Burnett C. H., A genetic study of hereditary orotic aciduria, *New Engl. J. Med.*, 270, 878 (1964).
169. Fessas P., Stamatoyannopoulos G., Hereditary persistence of foetal haemoglobin in Greece, A study and comparison, *Blood*, 24, 223 (1964).
170. Fildes R. A., Harris H., Genetically determined variation of adenylate kinase in man, *Nature (Lond.)*, 209, 261 (1966).
171. Fildes R. A., Parr C. W., Human red cell phosphogluconate dehydrogenase, *Nature (Lond.)*, 200, 890 (1963).
172. Finkelstein J. D., Mudd S. H., Irreverre F., Laster L., Deficiencies of cystathionase and homoserine dehydratase activities in cystathioninuria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 55, 865 (1966).
173. Fisher R. A., The genetical theory of natural selection, Clarendon Press, Oxford (1930).
174. Fisher R. A., Harris H., Studies on the purification and properties of the genetic variants of red cell acid phosphohydrolase in man, *Ann. New York Acad. Sci.*, 166, 380 (1930).
175. Fölling A., Über Ausscheidung von Phenylbrenztraubensäure in den Harn als Stoffwechselanomalie in Verbindung mit Imbezillität. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 227, 169 (1934).
176. Forbes G. B., Glycogen disease, Report of a case with abnormal glycogen structure in liver and skeletal muscle, *J. Pediat.*, 42, 645 (1953).
177. Fraser D., Hypophosphatasia, *Am. J. Med.*, 22, 730 (1957).
178. Fredrickson D. S., Sphingomyelin lipidosis: Niemann-Pick disease, In: *The metabolic basis of inherited disease*, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden and D. S. Fredrickson, 2nd ed. McGraw-Hill, New York (1966).
179. Frimpter G. W., Cystathioninuria: nature of the defect. *Science*, 149, 1095 (1965).
180. Frimpter G. W., Cystathioninuria. In: *Aminoacid metabolism and genetic variation*, ed. W. L. Nyhan. McGraw-Hill, New York (1967).
181. Frimpter G. W., Haymovitz A., Horwith M., Cystathioninuria, *New Engl. J. Med.*, 268, 333 (1963).
182. Froesch E. R., Prader A., Lohr A., Stuber H. W., Wolf H. P., Die hereditäre Fructoseintoleranz, einer bisher nicht bekannter Stoffwechselstörung, *Schweiz. Med. Wschr.*, 87, 1168 (1957).

183. Froesch E. R., Wolf H. P., Baitsch H., Prader A., Labhart A., Hereditary fructose intolerance, An inborn defect of hepatic fructose-1-phosphate splitting aldolase, *Am. J. Med.*, **34**, 151 (1963).
184. Garrod A. E., Inborn errors of metabolism, Oxford University Press (1909).
185. Gentz J., Jagenburg R., Zetterström R., Tyrosinemia: an inborn error of tyrosine metabolism with cirrhosis of the liver and multiple renal tubular defects, *J. Pediat.*, **66**, 620 (1965).
186. Gerald P. S., Diamond L. K., A new hereditary haemoglobinopathy (the Lepore trait) and its interaction with the thalassaemia trait, *Blood*, **12**, 835 (1958).
187. Gerald P. S., Efron M. L., Chemical studies of several varieties of Hb-M, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **47**, 1758 (1961).
188. Gerald P. S., Scott E. M., The hereditary methaemoglobinaemias, In: The metabolic basis of hereditary disease, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, S. A. Fredrickson, 2nd ed. McGraw-Hill, New York (1966).
189. Gerritsen T., Waisman H. A., Homocystinuria: absence of cystathionine in the brain, *Science*, **145**, 588 (1964a).
190. Gerritsen T., Waisman H. A., Homocystinuria: an error in the metabolism of methionine, *Pediatrics*, **33**, 413 (1964b).
191. Ghandimi H., Partington M. W., Salient features of histidinemia, *Am. J. Diseases Children*, **113**, 83 (1967).
192. Ghandimi H., Partington M. W., Hunter A., A familial disturbance of histidine metabolism, *New Engl. J. Med.*, **265**, 221 (1961).
193. Giblett E. R., The plasma transferrins, In: Progress in medical genetics, Vol. 2, ed. A. G. Bearn, A. G. Steinberg, Grune and Stratton, New York (1962).
194. Giblett E. R., Genetic markers in human blood, Blackwell, Oxford (1969).
195. Giblett E. R., Scott N. M., Red cell acid phosphatase: racial distribution and report of a new phenotype, *Am. J. Hum. Genet.* **17**, 425 (1965).
196. Giblett E. R., Steinberg A. G., The inheritance of serum haptoglobin types of American Negroes: evidence for a third allele Hp^{2M} , *Am. J. Hum. Genet.*, **12**, 160 (1960).
197. Gibson Q., The reduction of methaemoglobin in red blood cells and studies on the cause of idiopathic methaemoglobinaemia, *Biochem. J.*, **42**, 13 (1948).
198. Gilbert W., Müller-Hill B., Isolation of the lac repressor, *Proc. natl. Acad. Sci. U.S.*, **56**, 1891 (1966).
199. Gilles H. M., Fletcher K. A., Hendrickse R. G., Lindner R., Reddy S., Allan N., Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, sickling, and malaria in African children in South Western Nigeria, *Lancet*, **1**, 138 (1967).
200. Gitzelmann R., Hereditary galactokinase deficiency, a newly recognised cause of juvenile cataracts, *Pediat. Res.*, **1**, 14 (1967).
201. Gitzelmann R., Curtius H.-C., Schneller I., Galactitol and galactose-1-phosphate in the lens of a galactosemic infant, *Expl. Eye Res.*, **6**, 1 (1967).
202. Gjone E., Norum K. R., Familial serum cholesterol ester deficiency, *Acta Med. Scand.*, **183**, 107 (1968).
203. Goedde H. W., Gehring D., Hofmann R. A., On the problem of a «silent gene» in pseudocholinesterase polymorphism, *Biochem. Biophys. Acta*, **107**, 391 (1965).
204. Goedde H. W., Keller W., Metabolic pathways in maple syrup urine disease. In: Amino acid metabolism and genetic variation, ed. W.L. Nyhan, McGraw-Hill, New York (1967).
205. Goedde H. W., Richter E., Hufner M., Von zur Mühlen A., Untersuchungen zur Ahornsirupkrankheit an zwei Familien, *Humangenetik*, **1**, 163 (1964a).
206. Goedde H. W., Richter E., Hufner M., Sixel B., Arbeitsvorschrift eines vereinfachten Heterozygotentestes für die Ahornsirup-Krankheit, *Klin. Wschr.*, **15**, 18 (1964b).
207. Goodman S. I., McIntyre C. A., O'Brien D., Impaired intestinal transport of proline in a patient with familial iminoaciduria, *J. Pediat.*, **71**, 246 (1967).

208. *Granick J.*, The induction in vitro of the synthesis of δ -aminolaevulinic acid synthetase in chemical porphyria: ■ response to certain drugs, sex hormones and foreign chemicals, *J. Biol. Chem.*, **241**, 1359 (1966).
209. *Grimes A. J.*, *Meisler A.*, *Dacie J. V.*, Hereditary non-spherocytic haemolytic anaemia, A study of red cell carbohydrate metabolism in twelve cases of pyruvate kinase deficiency, *Brit. J. Haematol.*, **10**, 403 (1964).
210. *Grubb R.*, Correlation between Lewis blood group and secretor character in man, *Nature (Lond.)*, **162**, 933 (1948).
211. *Grubb R.*, Observations on the human group system Lewis, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **28**, 61 (1951).
212. *Grubb R.*, Agglutination of erythrocytes coated with «incomplete» anti-Rh by certain rheumatoid arthritis sera and some other sera, The existence of human serum groups, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **39**, 195 (1956).
213. *Grubb R.*, *Laurell A. B.*, Hereditary serological human serum groups, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **39**, 390 (1956).
214. *Grumbach M. M.*, *Marks P. A.*, *Moroshima A.*, Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and X chromosome polysomy, *Lancet*, **1**, 1330 (1962).
215. *Guidotti G.*, *Konigsberg W.*, *Craig L. C.*, On the dissociation of normal adult human haemoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **50**, 774 (1963).
216. *Gutsche B. B.*, *Scott E. M.*, *Wright R. C.*, Hereditary deficiency of pseudocholinesterase in Eskimos, *Nature (Lond.)*, **215**, 322 (1967).
217. *Hadorn B.*, *Tarlow M. J.*, *Lloyd J. K.*, *Wolff O. H.*, Intestinal enterokinase deficiency, *Lancet*, **1**, 812 (1969).
218. *Hahn E. V.*, *Gillespie E. B.*, Sick-cell anaemia: report of a case greatly improved by splenectomy; experimental study of sick-cell formation, *Arch. Int. Med.*, **39**, 233 (1927).
219. *Hakomori S.*, *Strycharz G. D.*, Investigations on cellular blood-group substances, I. Isolation and chemical composition of blood-group ABH and Leb isoantigens of sphingoglycolipid nature, *Biochem.*, **7**, 1279. (1968).
220. *Hall Craggs M.*, *Marsden P. D.*, *Raper A. B.*, *Lehmann H.*, *Beale D.*, Homozygous sickle cell anaemia arising from two different haemoglobins S, *Brit. med. J.*, **2**, 87 (1964).
221. *Halvorsen S.*, *Pande H.*, *Loken A. C.*, *Gjessing L. R.*, Tyrosinosis, *Arch. Disease Childhood*, **41**, 238 (1966).
222. *Hamnstrom B.*, *Gjone E.*, *Norum K. R.*, Familial plasma lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency, *Brit. Med. J.*, **2**, 233 (1969).
223. *Harrap G. J.*, *Watkins M. W.*, Characterisation of the enzyme from *T. foetus* that destroys the serological specificity of blood-group A substance, *Biochem. J.*, **93**, 9P (1964).
224. *Harris H.*, Enzyme polymorphisms in man, *Proc. Roy. Soc., B* **164**, 298 (1966).
225. *Harris H.*, Genes and isozymes, *Proc. Roy. Soc.*, ■ **174**, 1 (1969).
226. *Harris H.*, *Hopkinson D. A.*, *Robson E. B.*, Two dimensional electrophoresis of pseudo-cholinesterase components in normal human serum, *Nature (Lond.)*, **196**, 1296 (1962).
227. *Harris H.*, *Hopkinson D. A.*, *Robson E. B.*, *Whittaker M.*, Genetical studies on a new variant of serum cholinesterase detected by electrophoresis, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **26**, 359 (1963a).
228. *Harris H.*, *Hopkinson D. A.*, *Luffman J. E.*, *Rapley S.*, Electrophoretic variation in red cell enzymes. In: Hereditary disorders of erythrocyte metabolism, ed. E. Beutler, Grune and Stratton, New York (1968).
229. *Harris H.*, *Hopkinson D. A.*, *Spencer M.*, *Court-Brown W. M.*, *Mantle D.*, Red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in individuals with abnormal numbers of X-chromosomes, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **27**, 59 (1963b).
230. *Harris H.*, *Mittwoch U.*, *Robson E. B.*, *Warren F. L.*, Pattern of aminoacid excretion in cystinuria, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **19**, 196 (1955a).
231. *Harris H.*, *Mittwoch U.*, *Robson E. B.*, *Warren F. L.*, Phenotypes and genotypes in cystinuria, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **20**, 57 (1955b).

232. Harris H., Penrose L. S., Thomas D. H. H., Cystathioninuria. *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 23, 442 (1959).
233. Harris H., Robson E. B., A genetical study of ethanolamine-phosphate excretion in hypophosphatasia, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 23, 421 (1959).
234. Harris H., Robson E. B., Fractionation of human serum cholinesterase components by gel filtration, *Biochim. Biophys. Acta*, 73, 649 (1963).
235. Harris H., Robson E. B., Glen-Bott A. M., Thornton J. A., Evidence for non-allelism between genes affecting human serum cholinesterase, *Nature (Lond.)*, 200, 1185 (1963c).
236. Harris H., Warren F. L., Quantitative studies on the urinary cystine in patients with cystine stones and their relatives, *Ann. Eugen. Lond. (now Ann. Hum. Genet.)*, 18, 125 (1953).
237. Harris H., Whittaker M., Differential inhibition of human serum cholinesterase with fluoride, Recognition of two new phenotypes, *Nature (Lond.)*, 191, 496 (1961).
238. Harris H., Whittaker M., The serum cholinesterase variants: a study of twenty-two families selected via the «intermediate» phenotype, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 26, 73 (1962).
239. Harris H., Whittaker M., Lehmann H., Silk E., The pseudocholinesterase variants, Esterase levels and dibucaine numbers in families selected through suxamethonium sensitive individuals, *Acta Geent. Stat. Med.*, 10, 1 (1960).
240. Harris Z. W., Studies on the destruction of red blood cells, VIII. Molecular orientation in sickle cell haemoglobin solutions, *Proc. Soc. Exp. Biol, N.Y.*, 75, 197 (1950).
241. Hartman G., Group antigens in human organs, Munksgaard, Copenhagen (1941).
242. Harvald B., Hanel K. H., Squires R., Trap-Jensen J., Adenosinetriphosphatase deficiency in patients with non-spherocytic haemolytic anaemia, *Lancet*, 1, 18 (1964).
243. Hearn V. M., Smith Z. G., Watkins W. M., An α -N-acetyl-D-galactosaminyl-transferase associated with the human blood-group A character, *Biochem. J.*, 109, 315 (1968).
244. Herrick J. B., Peculiar elongated and sickle shaped red corpuscles in a case of severe anaemia, *Arch. Intern. Med.*, 6, 317 (1910).
245. Hers H. G., Etudes enzymatiques sur fragments hépatiques, Application à la classification des glycogenoses, *Rev. Intern. Hépatol.*, 9, 35 (1959).
246. Hers H. J., α -glucosidase deficiency in generalised glycogenstorage disease (Pompe's disease), *Biochem. J.*, 86, 11 (1962).
247. Hers H. G., Inborn lysosomal diseases, *Gastroenterology*, 48, 625 (1965).
248. Hers H. G., Joassin G., Anomalie de l'aldolase hépatique dans «intolerance» au fructose, *Enzymol. Biol. Clin.*, 1, 4 (1961).
249. Hiatt H. H., Pentosuria. In: The metabolic basis of inherited disease, ed. J. S. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, 2nd edition, McGraw-Hill, New York (1966).
250. Hirschfeld Z., Immunoelectrophoretic demonstration of qualitative differences in normal human sera and their relation to haptoglobins, *Acta Pathol. microbiol. Scand.*, 47, 160 (1959).
251. Hirschfeld J., The Gc system. Immunoelectrophoretic studies of normal human sera with special reference to a new genetically determined serum system (Gc), *Progr. Allergy*, 6, 155 (1962).
252. Hirschfeld J., The Ag system — a comparison of different isoprecipitation sera, *Series Haematologica*, 1, 38 (1968).
253. Hirschfeld J., Okachi K., Distribution of Ag(x) and Ag(y) antigens in some populations, *Vox Sang.*, 13, 1 (1967).
254. Hockaday R. D. R., Clayton J. E., Frederick E. W., Smith L. H. Jr., Primary hyperoxaluria, *Medicine*, 43, 325 (1964).
255. Hockwald R. S., Arnold J., Clayman B., Alving S. A., Toxicity of primaquine in Negroes, *J. Am. Med. Ass.*, 149, 1568 (1952).

256. *Hodgkin W. E., Giblett E. R., Levine H., Bauer W., Motulsky A. G.*, Complete pseudocholinesterase deficiency: genetic and immunologic characterization, *J. Clin. Invest.*, **44**, 486 (1965).
257. *Hollender A., Lorkin P. A., Lehmann H., Svensson B.*, New unstable haemoglobin Boras: $\beta 88(\text{F4})$ leucine \rightarrow arginine, *Nature (Lond.)*, **222**, 953 (1969).
258. *Holmes B., Quie P. G., Windhorst D. B., Good R. A.*, Fatal granulomatous disease of childhood, An inborn error of phagocytic function, *Lancet*, **1**, 1225 (1966).
259. *Holton J. B.*, Skin L-histidine ammonia-lyase activity in the family of a child with histidinaemia, *Clin. Chim. Acta*, **11**, 193 (1965).
260. *Holzel A., Komrower G. M.*, A study of the genetics of galactosaemia, *Arch. Disease Childhood*, **30**, 155 (1955).
261. *Holzel A., Schwartz V., Sutcliffe K. W.*, Defective lactose absorption causing malnutrition in infancy, *Lancet*, **1**, 1126 (1959).
262. *Hook E. B., Stamatoyannopoulos G., Yoshida A., Motulsky A. N.*, Glucose-6-phosphate dehydrogenase Madrona: ■ slow electrophoretic glucose-6-phosphate dehydrogenase variant with kinetic characteristics similar to those of normal type, *J. Lab. Clin. Med.*, **72**, 404 (1968).
263. *Hopkinson A. H., Harris H.*, Evidence for ■ second «structural» locus determining human phosphoglucomutase, *Nature (Lond.)*, **208**, 410 (1965).
264. *Hopkinson D. A., Harris H.*, Rare phosphoglucomutase phenotypes, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **30**, 167 (1966).
265. *Hopkinson D. A., Harris H.*, A third phosphoglucomutase locus in man, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **31**, 359 (1968).
266. *Hopkinson D. A., Harris H.*, Red cell acid phosphatase, phosphoglucomutase and adenylate kinase. In: *Biochemical methods in red cell genetics*, ed. G. Yunis, Academic Press, New York (1969).
267. *Hopkinson D. A., Spencer N., Harris H.*, Red cell acid phosphatase variants: a new human polymorphism, *Nature (Lond.)*, **199**, 969 (1963).
268. *Hopkinson D. A., Spencer N., Harris H.*, Genetical studies on human red cell acid phosphatase, *Am. J. Hum. Genet.*, **16**, 141 (1964).
269. *Hörlein H., Weber G.*, Über chronische familiäre Methämoglobinämia und eine neue Modifikation des Methämoglobins, *Deutsch. Med. Wschr.*, **73**, 476 (1948).
270. *Horton B. F., Huisman T. H. J.*, Linkage of the β -chain and γ -chain structural genes of human haemoglobins, *Am. J. Hum. Genet.*, **15**, 394 (1963).
271. *Howell R., Klinenberg J. R., Krooth R. S.*, Enzyme studies on diploid cell strains developed from patients with hereditary orotic aciduria, *Johns Hopkins Med. J.*, **120**, 81 (1967).
272. *Hsia D. Y. Y., Driscoll K., Troll W., Knox W. E.*, Detection by phenylalanine tolerance tests of heterozygous carriers of phenylketonuria, *Nature (Lond.)*, **178**, 1239 (1956).
273. *Hsia D. Y. Y., Paine R. S., Driscoll K. W.*, Phenylketonuria: Detection of the heterozygous carrier, *J. Mental Deficiency Res.*, **1**, 53 (1957).
274. *Hubby J. L., Lewontin R. C.*, A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations, I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*, *Genetics*, **54**, 577 (1966).
275. *Huehns E. R., Dance N., Beaven G. H., Hecht F., Motulsky G.*, Human embryonic haemoglobins, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **29**, 327 (1964).
276. *Huehns E. R., Modell C. B.*, Haemoglobin synthesis in thalassaemia, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **61**, 157 (1967).
277. *Hug G., Schubert W. K., Chuck G.*, Phosphorylase kinase of the liver: deficiency in a girl with increased hepatic glycogen, *Science*, **153**, 1534 (1966).
278. *Hugnes H. P., Biehl J. P., Jones A. P., Schmidt L. H.*, Metabolism of isoniazid in man as related to the occurrence of peripheral neuritis, *Am. Rev. Tuberc.*, **70**, 266 (1954).
279. *Hugh-Jones K., Newcomb A. L., Hsia D. Y. Y.*, The genetic mechanism of galactosaemia, *Arch. Disease Childhood*, **35**, 521 (1960).

280. Huguley C. M. Jr., Bain J. A., Rivers S., Scoggins R., Refractory megaloblastic anaemia associated with excretion of orotic acid, *Blood*, **14**, 615 (1959).
281. Huijing F., Obbink H. J. K., Van Creveld S., The activity of the debranching-enzyme system in leucocytes, A genetic study of glycogen storage disease type III, *Acta Genet. Basel*, **18**, 128 (1968).
282. Hunt J. A., Ingram V. M., Allelomorphism and the chemical differences of the human haemoglobins A, S and C, *Nature (Lond.)*, **184**, 1062 (1958).
283. Hunt J. A., Lehmann H., Haemoglobin Bart's: a foetal haemoglobin without α -chains, *Nature (Lond.)*, **184**, 872 (1959).
284. Hunter R. L., Markert C. L., Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels, *Science*, **125**, 1294 (1957).
285. Huntsman R. G., Hall M., Lehmann H., Sukumaran P. K., A second and a third abnormal haemoglobin in Norfolk, *Brit. Med. J.*, **1**, 720 (1963).
286. Hutchison J. H., McGirr E. M., Sporadic non-endemic goitrous cretinism, *Lancet*, **1**, 1035 (1956).
287. Illingworth B., Cori G. T., Structure of glycogens and amylopectins, III. Normal and abnormal human glycogen, *J. Biol. Chem.*, **199**, 653 (1952).
288. Illingworth B., Cori G. T., Cori C. F., Amylo 1, 6 glucosidase activity in muscle tissue in generalised glycogen storage disease, *J. Biol. Chem.*, **218**, 123 (1956).
289. Ingram V. M., Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin, *Nature (Lond.)*, **180**, 326 (1957).
290. Ingram V. M., Abnormal human haemoglobins, III. The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobins, *Biochim. Biophys. Acta*, **36**, 402 (1959).
291. Ingram V. M., Gene evolution and the haemoglobins, *Nature (Lond.)*, **189**, 704 (1961).
292. Ingram V. M., Stretton A. O. W., Genetic basis of the thalassemia diseases, *Nature (Lond.)*, **184**, 903 (1959).
293. Iseki A., Furokawa K., Yamamoto S., B substance-decomposing enzyme produced by an anaerobic bacterium, II. Chemical action of the B-decomposing enzyme, *Proc. Japan Acad.*, **35**, 513 (1959).
294. Iseki S., Masaki S., Transformation of blood group substance by bacterial enzyme, *Proc. Japan Acad.*, **29**, 460 (1953).
295. Isselbacher K. J., Anderson E. P., Kurahashi K., Kalckar H. M., Congenital galactosaemia: a single enzymatic block in galactose metabolism, *Science*, **123**, 635 (1956).
296. Itano H. A., The human haemoglobins: their properties and genetic control, *Advan. Protein Chem.*, **12**, 216 (1957).
297. Itano H. A., The synthesis and structure of normal and abnormal haemoglobins. In: *Abnormal haemoglobins in Africa*, ed. J.H.P. Jonxis, Blackwell, Oxford (1965).
298. Itano H. A., Genetic regulation of peptide synthesis in haemoglobins, *J. Cell Physiol.*, **67**, suppl. 1, 65 (1966).
299. Itano H. A., Neel J. V., A new inherited abnormality of human haemoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **36**, 613 (1950).
300. Itano H. A., Robinson E. A., Genetic control of the α -chain and β -chains of hemoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **46**, 1492 (1960).
301. Jacob F., Monod J., Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins, *J. Mol. Biol.*, **3**, 318 (1961).
302. Jatzkewith H., Mehl E., Cerebroside-sulphatase and arylsulphatase A deficiency in metachromatic leukodystrophy (ML), *J. Neurochem.*, **16**, 19 (1969).
303. Jenne J. W., Partial purification and properties of the isoniazid trans-acetylase in the human liver, Its relationship to the acetylation of p-aminosalicylic, *J. Clin. Invest.*, **44**, 1992 (1965).

304. *Jepson J. B.*, Hartnup disease. In: The metabolic basis of inherited disease, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson, McGraw-Hill, New York (1965).
305. *Jervis G. A.*, Detection of heterozygotes for phenylketonuria, *Clin. Chim. Acta*, 5, 471 (1960).
306. *Jervis G. A.*, Excretion of phenylalanine and derivatives in phenylpyruvic oligophrenia, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 75, 83 (1950).
307. *Jervis G. A.*, Phenylpyruvic oligophrenia: deficiency of phenylalanine oxidizing system, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 82, 514 (1953).
308. *Johnson F. M.*, *Kanapi C. G.*, *Richardson R. H.*, *Wheeler M. R.*, *Stone W. S.*, An analysis of polymorphisms among isozyme loci in dark and light *Drosophila ananassae* strains from American and Western Samoa, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 56, 119 (1966).
309. *Jones R. T.*, *Brimhall B.*, *Huisman T. H. G.*, *Kleihauer E.*, *Betke K.*, Hemoglobin Freiburg: abnormal hemoglobin due to deletion of a single aminoacid residue, *Science*, 154, 1024 (1956).
310. *Jones R. T.*, *Schroeder W. A.*, *Balog J. E.*, *Vinograd J. R.*, Gross structure of hemoglobin H, *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 3161 (1959).
311. *Justice P.*, *O'Flynn M. E.*, *Hsia D. Y. Y.*, Phenylalanine hydroxylase activity in hyperphenylalanemia, *Lancet*, 1, 928 (1967).
312. *Kabat E. A.*, Blood group substances; their chemistry and immunochemistry. Academic Press, New York (1956).
313. *Kabat E. A.*, *Leskowitz S.*, Immunochemical studies on blood groups, XVII. Structural units involved in blood group A and specificity, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 5159 (1955).
314. *Kalckar H. M.*, *Anderson E. P.*, *Isselbacher K. J.*, Galactosemia, a congenital defect in \blacksquare nucleotide transferase, *Biochim. Biophys. Acta*, 20, 262 (1956).
315. *Kalow W.*, Cholinesterase types. In: Biochemistry of human genetics, Ciba Foundation Symp., ed. G. E. W. Wolstenholme, C. M. O'Connor, Churchill, London (1959).
316. *Kalow W.*, *Davies R. O.*, The activity of various esterase inhibitors towards atypical human serum cholinesterase, *Biochem. Pharmacol.*, 1, 183 (1958).
317. *Kalow W.*, *Genest K.*, A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterases, Determination of dibucaine numbers, *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 35, 339 (1957).
318. *Kalow W.*, *Staron N.*, On the distribution and inheritance of atypical forms of human serum cholinesterase as indicated by dibucaine numbers, *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 35, 1305 (1957).
319. *Kamaryt J.*, *Laxova R.*, Amylase heterogeneity, Some genetic and clinical aspects, *Humangenetik*, 1, 579 (1955).
320. *Kaplan J.-C.*, *Beutler E.*, Electrophoresis of red cell NADH- and NADPH-diaphorases in normal subjects and patients with congenital methemoglobinemia, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 29, 605 (1967).
321. *Kaplan N. O.*, *Everse J.*, *Admiraal J.*, Significance of substrate inhibition of dehydrogenases, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 151, 400 (1968).
322. *Karp G. W., Jr.*, *Sutton H. E.*, Some new phenotypes of human red cell acid phosphatase, *Am. J. Hum. Genet.*, 19, 54 (1967).
323. *Kaziro K.*, *Kikuchi G.*, *Nakamura H.*, *Yoshiya M.*, Die Frage nach der physiologischen Funktion der Katalase im menschlichen Organismus: Notiz über die Entdeckung einer Konstitutionsanomalie «Anenzymia catalasea», *Chem. Ber.*, 85, 866 (1952).
324. *Keitt A. S.*, Pyruvate kinase deficiency and related disorders of red cell glycolysis, *Am. J. Med.*, 41, 742 (1966).
325. *Kelley W. N.*, Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase deficiency in the Lesch-Nyhan syndrome and gout, *Federation Proc.*, 27, 1047 (1968).
326. *Kelley W. N.*, *Rosenbloom F. M.*, *Henderson I. F.*, *Seegmiller J. E.*, A specific enzyme defect in gout associated with overproduction of uric acid, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 57, 1735 (1967).

327. *Kiil R., Rokkones T.*, Late manifesting variant of branched-chain ketoaciduria (maple syrup urine disease), *Acta Pediat.*, 53, 356 (1964).
328. *Kimura M.*, Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nearly neutral isoalleles, *Genet. Res. Camb.*, 11, 247 (1968).
329. *King J. L., Jukes T. H.*, Non-Darwinian evolution, *Science*, 164, 788 (1969).
330. *Kirk R. L.*, The haptoglobin groups in man, Karger, Basel (1968).
331. *Kirkman H. N.*, Characteristics of glucose-6-phosphate dehydrogenase from normal and primaquine sensitive erythrocytes, *Nature (Lond.)*, 184, 1291 (1959).
332. *Kirkman H. N.*, Glucose-6-phosphate dehydrogenase variants and drug-induced hemolysis, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 151, 753 (1968).
333. *Kirkman H. N., Bynum E.*, Enzymic evidence of a galactosaemic trait in parents of galactosaemic children, *Ann. Hum. Genet., Lond.*, 23, 117 (1959).
334. *Kirkman H. N., Hendrickson E. M.*, Sex-linked electrophoretic difference in glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Am. J. Hum. Genet.*, 15, 241 (1963).
335. *Kirkman H. N., McCurdy P. R., Naiman J. L.*, Functionally abnormal G6PD, Cold Spring Harbor. Symp. Quant. Biol., 29, 391 (1964a).
336. *Kirkman H. N., Riley H. D. Jr.*, Congenital non-spherocytic haemolytic anaemia, Studies on a family with a qualitative defect in glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Am. J. Diseases Children*, 102, 313 (1961).
337. *Kirkman H. N., Riley H. D. Jr., Cromwell B. B.*, Different enzymic expressions of mutants of human glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 46, 938 (1960).
338. *Kirkman H. N., Rosenthal I. M., Simon E. R., Carson P. E., Brinson A. G.*, «Chicago 1» variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase in congenital hemolytic disease, *J. Lab. Clin. Med.*, 63, 715 (1964b).
339. *Kirkman H. N., Schettini F., Pickard B. M.*, Mediterranean variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase, *J. Lab. Clin. Med.*, 63, 726 (1964c).
340. *Kirkman H. N., Simon E. R., Pickard B. M.*, Seattle variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase, *J. Lab. Clin. Med.*, 66, 834 (1965).
341. *Kitto G. B., Wassarman P. G., Kaplan N. O.*, Enzymatically active conformers of mitochondrial malate dehydrogenase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 56, 578 (1966).
342. *Kleihauer E. F., Reynolds C. A., Dozy A. M., Wilson J. B., Moores R. R., Berenson M. P., Wright C. S., Huisman T. H. J.*, Haemoglobin Bibba or $\alpha_2^{136}\text{Pro}$ β_2 , an unstable α -chain abnormal haemoglobin, *Biochim. Biophys. Acta*, 154, 220 (1968).
343. *Knight R. A., Selin M. J., Harris H. W.*, Genetic factors influencing isoniazid blood levels in humans, *Trans. Conf. Chemotherap. Tuberc. (St. Louis)*, 18, 52 (1959).
344. *Knox W. E., Messinger E.*, The detection of the metabolic effect of the recessive gene for phenylketonuria, *Am. J. Hum. Genet.*, 10, 53 (1958).
345. *Kobata A., Grollman E. F., Ginsburg V.*, An enzymatic basis for blood type A in humans, *Arch. Biochem. Biophys.*, 124, 609 (1968a).
346. *Kobata A., Grollman E. F., Ginsburg V.*, An enzymatic basis for blood type B in humans, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 32, 272 (1968b).
347. *Koch J., Skokstad E. L. R., Williams H. E., Smith L. H. Jr.*, Deficiency of 2-oxo-glutarate-glyoxylate carboligase activity in primary hyperoxaluria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 57, 1123 (1967).
348. *Komrower G. M., Schwarz V., Holzel A., Golberg L.*, A clinical and biochemical study of galactosaemia, *Arch. Disease Childhood*, 31, 254 (1956).
349. *Konotey-Ahulu F.I.D., Gallo E., Lehmann H., Ringelhann B.*, Haemoglobin Korle-Bu ($\beta 73$ aspartic acid \rightarrow asparagine), *J. Med. Genet.*, 5, 107 (1968).
350. *Koscielak J.*, Isolation of ABO antigens from red cells. In: *Methods in immunology and immunochemistry*, Vol. 1, ed. C. A. Williams and M. W. Chase, Academic Press, New York (1967).

351. Kraus A. P., Langston M. F., Lynch B. L., Red cell phosphoglycerate kinase deficiency, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **30**, 173 (1968).
352. Kraus A. P., Neely C. L. Jr., Human erythrocyte lactate dehydrogenase: four genetically determined variants, *Science*, **145**, 595 (1964).
353. Krooth R. S., Properties of diploid cell strains developed from patients with an inherited abnormality of uridine biosynthesis, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **29**, 189 (1964).
354. Kumahara Y., Feingold D. S., Freedberg I. M., Hiatt H. H., Studies of pentose metabolism in normal subjects and in patients with pentosuria and pentosuria trait, *J. Clin. Endocr.*, **21**, 887 (1961).
355. Kunkel H. G., Ceppellini R., Muller-Eberhard U., Wolf J. Observations on the minor basic haemoglobin component in blood of normal individuals and patients with thalassaemia, *J. Clin. Invest.*, **36**, 1615 (1957).
356. Labie D., Schroeder W. A., Huisman T. H. J., The amino acid sequence of the $\delta\beta$ chains of haemoglobin Lepore Augusta-Lepore Washington, *Biochim. Biophys. Acta*, **127**, 428 (1966).
357. Laberge C., Hereditary tyrosinemia in a French Canadian isolate, *Am. J. Hum. Genet.*, **21**, 36 (1969).
358. La Du B.N., Alcaptonuria. In: *The metabolic basis of inherited diseases*, ed. J.B. Stanbury, J. B. Wyngaarden and D. S. Fredrickson, 2nd edition, McGraw-Hill, New York (1966).
359. La Du B.N., The enzymatic deficiency in tyrosinemia, *Am. J. Diseases Children*, **113**, 54 (1967).
360. La Du B.N., Histidinemia, *Am. J. Diseases Children*, **113**, 88 (1967).
361. La Du B.N., Zannoni V. G., Laster L., Seegmiller J. E., The nature of the defect in tyrosine metabolism in alcaptonuria, *J. Biol. Chem.*, **230**, 251 (1958).
362. La Du B.N., Howell R. R., Jacoby G. A., Seegmiller J. E., Zannoni V. G., The enzymatic effect in histidinemia, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **7**, 398 (1962).
363. Lambotte-Legrand J., Lambotte-Legrand C., Notes complémentaires sur la drépanocytose, II. Sicklémie et malaria, *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.*, **38**, 45 (1958).
364. Landing R. H., Silverman F. N., Craig J. M., Jacoby M. D., Lahey M. E., Chadwick D. L., Familial neurovisceral lipidosis, An analysis of eight cases of a syndrome previously reported as «Hurler variant», «pseudo-Hurler disease» and Tay-Sachs disease with visceral involvement, *Am. J. Diseases Children*, **108**, 503 (1964).
365. Landsteiner K., Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes, *Wien. Klin. Wschr.*, **14**, 1132 (1901).
366. Larizza P., Brunetti P., Grignani F., Venture S., L'individualità bioenzimatica dell'eritrocite «fabico» sopra alcune anomalie biochemiche ed enzimatiche della emazine nei pazienti affetti da favismo e nei loro familiari, *Haematologia*, **43**, 205 (1958).
367. Lasker M., Essential fructosuria, *Human Biol.*, **13**, 51 (1941).
368. Lasker M., Enklewitz M., Lasker G. W., The inheritance of L-xyloketosuria (essential pentosuria), *Human Biol.*, **8**, 243 (1936).
369. Laster L., Mudd S. H., Finkelstein J. D., Irreverre F., Homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency: the metabolism of L-methionine, *J. Clin. Invest.*, **44**, 1708 (1965).
370. Layzer R. B., Rowland L. P., Ranney H. M., Muscle phosphofructokinase deficiency, *Arch. Neurol.*, **17**, 512 (1967).
371. Legum C. P., Nitowsky H. M., Studies on leucocyte branched enzyme activity in a family with type IV glycogenosis, *J. Pediatr.*, **74**, 84 (1969).
372. Lehmann H., Carrell R. W., Variations in the structure of human haemoglobin, *Brit. Med. Bull.*, **25**, 14 (1969).
373. Lehmann H., Huntsman R. G., *Man's haemoglobins*, North-Holland Publishing Co., Amsterdam (1966).

374. *Lehmann H., Huntsman R. G., Ager J. A. M.*, The haemoglobinopathies and thalassaemia. In: The metabolic basis of inherited disease, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden and D. S. Fredrickson, 2nd edition, McGraw-hill, New York (1966).
375. *Lehmann H., Ryan E.*, The familial incidence of low pseudocholinesterase level, *Lancet*, 2, 124 (1956).
376. *Lehrs H.*, Über die gruppenspezifische Eigenschaften des menschlichen Speichels, *Z. Immun. Forsch.*, 66, 175 (1930).
377. *Levine P., Robinson E., Celano M., Briggs O., Falkenburg L.*, Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B, *Blood*, 10, 1100 (1955).
378. *Lewis E. B.*, Pseudo allelism and gene evolution, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 16, 159 (1951).
379. *Lewis G. M., Spencer-Peet J., Stewart K. M.*, Infantile hypoglycaemia due to inherited deficiency of glycogen synthetase in liver, *Arch. Disease Childhood*, 38, 40 (1963).
380. *Lewis G. M., Stewart K. M., Spencer-Peet J.*, Absence of the liver enzyme, UDPG-glycogen 1,4-transglycosylase, as a cause of infantile hypoglycaemia, *Biochem. J.*, 84, 115P (1962).
381. *Lewis W. H. P., Corney G., Harris H.*, Pep A 5-1 and Pep A 6-1: two new variants of peptidase A with features of special interest, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 32, 35 (1968).
382. *Lewis W. H. P., Harris H.*, Human red cell peptidases, *Nature (Lond.)*, [215, 351 (1967).
383. *Lewis W. H. P., Harris H.*, In vitro «hybridisation» of peptidase A subunits between different human phenotypes, and between human and monkey, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 33, 89 (1967).
384. *Lewis W. H. P., Harris H.*, Peptidase D (prolidase) variants in man, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 32, 317 (1969b).
385. *Lewontin R. C.*, An estimate of average heterozygosity in man, *Amer. J. Hum. Genet.*, 19, 681 (1967).
386. *Lewontin R. C., Hubby J. L.*, A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations, II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural population of *Drosophila pseudoobscura*, *Genetics*, 54, 595 (1966).
387. *Levin B.*, Agrinino succinic aciduria, *Am. J. Diseases Children*, 113, 162 (1967).
388. *Lesch M., Nyhan W. L.*, A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function, *Am. J. Med.*, 36, 561 (1964).
389. *Liddell J., Brown D., Beale D., Lehmann H., Huntsman R. G.*, A new haemoglobin — J_a Oxford found during a survey of an English population, *Nature (Lond.)*, 204, 269 (1964).
390. *Liddell J., Lehmann H., Davies D.*, Harris and Whittaker's pseudocholinesterase variant with increased resistance to fluoride, A study of four families and the identification of the homozygote, *Acta Genet.*, 13, 95 (1963).
391. *Liddell J., Lehmann H., Silk E.*, A «silent» pseudocholinesterase gene, *Nature (Lond.)*, 193, 561.
392. *Lie-Injo L. E., Lie H. G., Ager J. A. M., Lehmann H.*, α -thalassaemia as a cause of hydrops foetalis, *Brit. J. Haematol.*, 8, 1 (1962).
393. *Lifschitz F.* Congenital lactase deficiency, *J. Pediat.*, 69, 229 (1966).
394. *Linder D., Gartler S. M.*, Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase electrophoretic variants in different tissues of heterozygotes, *Am. J. Hum. Genet.*, 17, 212 (1965a).
395. *Linder D., Gartler S. M.*, Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism: utilisation as a cell marker in the study of leiomyomas, *Science*, 150, 67 (1965b).
396. *Livingstone F. B.*, Abnormal hemoglobins in human populations, *Aldine Publishing Co., Chicago* (1967).
397. *Lloyd K. O., Kabat E. A., Layug E. J., Gruezo F.*, Immunochemical studies on blood groups, 34. Structure of some oligosaccharides produced by alkaline

- degradation of blood group A, B, and H substances, *Biochemistry*, 5, 1489 (1966).
398. Lloyd K. O., Kabat E. A., Lirerio E., Immunochemical studies on blood groups, 38. Structure and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood group Lewis^a substance, Proposed structure of the carbohydrate chains of human blood group A, B, H, Le^a and Le^b substances, *Biochemistry*, 7, 2976 (1968).
 399. Löhr G. W., Waller H. D., Eine neue enzymopenische hämolytische Anämie mit Glutathionreductase-Mangel, *Med. Klin.*, 57, 1521 (1962).
 400. Long W. K., Glutathione reductase in red blood cells: variant associated with gout, *Science*, 155, 712 (1967).
 401. Long W. K., Kirkman H. N., Sutton H. E., Electrophoretically slow variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase from red cells of Negroes, *J. Lab. Clin. Med.*, 65, 81 (1965).
 402. Luffman J. E., Harris H., A comparison of some properties of human red cell acid phosphatase in different phenotypes, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 30, 387 (1967).
 403. Vuzzatto L., Allan N. C., Different properties of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes with normal and abnormal enzyme levels, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 21, 547 (1965).
 404. Luzzatto L., Usanga E. A., Reddy S., Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells: resistance to infection by malaria parasites, *Science*, 164, 839 (1969).
 405. Lyon M. E., Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome, *Am. J. Hum. Genet.*, 14, 135 (1962).
 406. Maciver J. E., Went L. N., Irvine R. A., Hereditary persistence of foetal haemoglobin: a family study suggesting allelism of the F gene to the S and C haemoglobin genes, *Brit. J. Haematol.*, 7, 373. (1961).
 407. Mackenzie D. Y., Woolf L. I., Maple syrup urine disease — an inborn error of the metabolism of valine, leucine and isoleucine associated with gross mental deficiency, *Brit. med. J.*, 1, 90 (1959).
 408. McArdle R. B., Myopathy due to a defect in muscle glycogen breakdown, *Clin. Sci.*, 10, 13 (1951).
 409. McCarthy C. F., Borland J. L. Jr., Lynch H. J. Jr., Owen E. E., Tyor M. P., Defective uptake of basic amino acids and L-cystine by intestinal mucosa of patients with cystinuria, *J. Clin. Invest.*, 43, 1518 (1964).
 410. McConnell R. B., The genetics of gastro-intestinal disorders, Oxford University Press (1966).
 411. McCurdy P. R., Kirkman H. N., Naiman J. L., Jim R. T. S., Pickard B. M., A Chinese variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase, *J. Lab. Clin. Med.*, 67, 374 (1966).
 412. McCurdy P. R., Pearson H., Gerald P. S. A new haemoglobinopathy of unusual genetic significance, *J. Lab. Clin. Med.*, 58, 86 (1961).
 413. McKusick V. A., Mendelian inheritance in man, Catalogs of autosomal Dominant, Autosomal recessive, and X linked phenotypes, John Hopkins Press, Baltimore (1966).
 414. McMurray W. C., Rathbun J. C., Mohyuddin F., Koegler S. J., Citrullinuria, *Pediatrics*, 32, 347 (1963).
 415. Marcus D. M., Cass L. E., Glycosphingolipids with Lewis blood group activity: uptake by human erythrocytes, *Science*, 164, 553 (1969).
 416. Markert C. L., Lactate dehydrogenase isozymes: dissociation and recombination of subunits, *Science*, 140, 1329 (1963).
 417. Markert C. L., The molecular basis for isozymes, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 151, 14 (1968).
 418. Markert C. L., Moller F., Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 45, 753 (1959).
 419. Marks P. A., Red cell glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconic dehydrogenases and nucleoside phosphorylase, *Science*, 127, 1338 (1958).

420. Marks P. A., Banks J., Gross R. T., Genetic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, *Nature (Lond.)*, **194**, 454 (1962).
421. Marks P. A., Gross R. T., Hurwitz R. E., Gene action in erythrocyte deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: tissue enzyme levels, *Nature (Lond.)*, **183**, 1266 (1959).
422. Marks P. A., Szeinberg A., Banks J., Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of normal and mutant human subjects, *Properties of purified enzymes*, *J. Biol. Chem.*, **236**, 10 (1961).
423. Marr A. M. S., Donald A. S. R., Watkins W. M., Morgan W. T. J., Molecular and genetic aspects of human blood-group Le^b specificity, *Nature (Lond.)*, **215**, 1345 (1967).
424. Mathai C. K., Beutler E., Electrophoretic variation of galactose-1-phosphate uridyltransferase, *Science*, **154**, 1179 (1966).
425. Mehl E., Jatzkewitz M., Evidence for a genetic block in metachromatic leukodystrophy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **19**, 407 (1965).
426. Melartin L., Blumberg B. S., Albumin Naskapi: a new variant of serum albumin, *Science*, **153**, 3744 (1966).
427. Migeon B. R., Der Kaloustian V. M., Nyhan W. L., Young W. J., Childs B., X-linked hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase deficiency: heterozygote has two clonal populations, *Science*, **160**, 425 (1968).
428. Miller A. L., McLean P., Urea cycle enzymes in the liver of a patient with argininosuccinic aciduria, *Clin. Sci.*, **32**, 385 (1967).
429. Milne M. D., Asatoor A. M., Edwards K. G. D., Loughbridge L. W., The intestinal absorption defect in cystinuria, *Gut*, **2**, 323 (1961).
430. Mishu M. K., Nance W. E., Further evidence for close linkage of the Hb^B and Hb^S loci in man, *J. Med. Genet.*, **6**, 190 (1969).
431. Mitoma C., Auld R. M., Udenfriend S., On the nature of enzymatic defect in phenylpyruvic oligophrenia, *Proc. Soc. Exptl. Biol. N.Y.*, **94**, 634 (1957).
432. Miyaji T., Iuchi I., Shibata S., Takeda I., Tamura A., Possible aminoacid substitution in the α chain (α 87 Tyr) of Hb M Iwata. *Acta Haematol. Japan*, **26**, 538 (1963).
433. Miyamoto M., Fitzpatrick T. B., Competitive inhibition of mammalian tyrosinase by phenylalanine and its relationship to hair pigmentation in phenylketonuria, *Nature (Lond.)*, **179**, 199 (1957).
434. Mohyuddin F., Rathbun J. C., McMurray W. S., Studies on aminoacid metabolism in citrullinuria, *Amer. J. Diseases Children*, **113**, 152 (1967).
435. Monn E., Relation between blood cell phosphoglucomutase isoenzymes and age of cell population, *Scand. J. Haematol.*, **1** (1969a).
436. Monn E., Chromatographic studies on human red cell phosphoglucomutase, *Protein Res.*, **1**, 1 (1969b).
437. Morgan W. T. J., Soluble blood group specific substances. In: *Methods in Immunology and immunochemistry*, p. 75, ed. C.A. Williams and M. W. Chase, Vol. 1, Academic Press, New York (1967).
438. Morgan W. T. J., Van Heyningen R., The occurrence of A, B and O blood group substances in pseudomucinous ovarian cyst fluids, *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **25**, 5 (1944).
439. Morgan W. T. J., Watkins W. M., The detection of a product of the blood group O gene and the relationship of the so-called O substance to the agglutinogens A and B, *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **29**, 159 (1948).
440. Morgan W. T. J., Watkins W. M., The inhibition of the haemagglutinins in plant seeds by human blood-group substances and simple sugars, *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **34**, 94 (1953).
441. Morgan W. T. J., Watkins W. M., The product of the human blood group A and B genes in individuals belonging to group AB, *Nature (Lond.)*, **177**, 521 (1956).
442. Morgan W. T. J., Watkins W. M., Genetic and biochemical aspects of human blood group A-, B-, H-, Le^a- and Le^b-specificity, *Brit. Med. Bull.*, **25**, 30 (1969).

443. *Morganti G., Beolchini P. E., Vierucci A., Bütler R.*, Contributions to the genetics of the serum β -lipoproteins in man, I. Frequency, transmission and penetrance of factors Ag(x) and Ag(y), *Humangenetik*, **4**, 262 (1967).
444. *Morris M. D., Fisher D. A., Fiser R.*, Late onset branched chain ketoaciduria (maple syrup urine disease), *Journal-Lancet*, **86**, 149 (1966).
445. *Morrow G.*, Citrullinemia, *Am. J. Diseases Children*, **113**, 157 (1967).
446. *Morrow III, G., Barnes L. A., Cardinale G. J., Abeles R. H., Flaks J. G.*, Congenital methylmalonic acidemia: enzymatic evidence for two forms of the disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **63**, 191 (1969).
447. *Morton N. E.*, Genetic studies of Northeastern Brazil, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **29**, 69 (1964).
448. *Motulsky A. G.*, Current concepts of the genetics of the thalassaemias, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **29**, 399 (1964).
449. *Mourant A. E.*, A «new» human blood group antigen of frequent occurrence, *Nature (Lond.)* **158**, 237 (1946).
450. *Mudd S. H., Finkelstein J. D., Irreverre F., Laster L.*, Homocystinuria: an enzymatic defect, *Science*, **143**, 1443 (1964).
451. *Mudd S. H., Irreverre F., Laster L.*, Sulfite oxidase deficiency in man: demonstration of the enzymatic defect, *Science*, **156**, 1599 (1967).
452. *Muller C. J., Kingma S.*, Haemoglobin Zurich $\alpha\beta_2^{csArg}$, *Biochim. Biophys. Acta*, **50**, 595 (1961).
453. *Murayama M.*, Molecular mechanism of red cell «sickling», *Science*, **153**, 145 (1966).
454. *Murray P., Thomson J. A., McGirr E. M., Wallace T. J., Macdonald E. M., Maccabae H. J.*, Absent and defective iodotyrosine deiodination, *Lancet*, **1**, 183 (1965).
455. *Nakao K., Wada O., Kitamura T., Uono M.*, Activity of amino-laevulinic acid synthetase in normal and porphyric human livers, *Nature (Lond.)*, **210**, 838 (1966).
456. *Nakajima H.*, Studies on heme α -methenyl oxygenase, a new enzyme which is capable of transforming haemoglobin-haptoglobin to a possible precursor of biliverdin, *Proc. 9th Congr. Eur. Soc. Haematology*, Lisbon, p. 840. Karger, Basel (1963).
457. *Nakajima H., Takamura T., Nakajima O., Yamaoka K.*, Studies on heme α -methenyl oxygenase, *J. Biol. Chem.*, **238**, 3784 (1963).
458. *Nance W. E.*, Genetic studies of human serum and erythrocyte polymorphisms, Ph. D. Thesis, University of Wisconsin (1967).
459. *Nance W. E., Claflin A., Smithies O.*, Lactic dehydrogenase: genetic control in man, *Science*, **142**, 1075 (1963).
460. *Nance W. E., Smithies O.*, New haptoglobin alleles: a prediction confirmed, *Nature (Lond.)*, **198**, 869 (1963).
461. *Nance W. E., Uchida L.*, Turner's syndrome, twinning, and an unusual variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Am. J. Hum. Genet.*, **16**, 380 (1964).
462. *Necheles T. F., Maldonado N., Barquet-Chediak A., Allen D. M.*, Homozygous erythrocyte glutathione-peroxidase deficiency: clinical and biochemical studies, *Blood*, **33**, 64 (1969).
463. *Neeb H., Beiboer J. L., Jonxis J. H. P., Kaars Sijpesteijn J. A., Muller C. J.*, Homozygous Lepore haemoglobin disease appearing as thalassaemia major in two Papuan siblings, *Trop. Geogr. Med.*, **13**, 207 (1961).
464. *Neel J. V.*, The inheritance of sickle cell anaemia, *Science*, **110**, 64 (1949).
465. *Neel J. V.*, The inheritance of the sickling phenomenon, with particular reference to sickle cell disease, *Blood*, **6**, 389 (1951).
466. *Neel J. B., Salzano F. M.*, Further studies on the Xavante Indians. X. Some hypotheses — generalizations resulting from these studies, *Am. J. Hum. Genet.*, **19**, 554 (1967).

467. Ng W. G., Donnell G. N., Bergren W. R., Deficiency of erythrocyte nicotinamide adenine dinucleotide nucleosidase (NADase) activity in the Negro, *Nature (Lond.)*, **217**, 64 (1968).
468. Nishimura E. T., Hamilton H. B., Kobara T. Y., Takahara S., Ogura Y., Doi K., Carrier state in human acatalasemia, *Science*, **130**, 3371 (1959).
469. Norum K. R., Gjone E., Familial serum-cholesterol esterification failure, A new inborn error of metabolism, *Biochim. Biophys. Acta*, **144**, 698 (1967a).
470. Norum K. R., Gjone E., Familial plasma lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency, Biochemical study of a new inborn error of metabolism, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **20**, 231 (1967b).
471. Nyhan W. L., Pesek J., Sweetman L., Carpenter D. G., Carter C. H., Genetics of an X-linked disorder of uric acid metabolism and cerebral function, *Pediat. Res.*, **5**, 5 (1967).
472. Nyman M., Serum Haptoglobin, Methodological and clinical studies, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **11**, suppl. 39 (1959).
473. Oates I. A., Nirenberg P. Z., Jepson J. B., Sjoerdsma A., Udenfriend S., Conversion of phenylalanine to phenylethylamine in patients with phenylketonuria, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **112**, 1078 (1963).
474. Oberholzer V. G., Levin B., Burgess E. A., Young W. F., Methylmalonic aciduria, Inborn error of metabolism leading to metabolic acidosis, *Arch. Dis. Childhood*, **42**, 492 (1967).
475. Öckerman P. A., Köhlin P., Tissue acid hydrolase activities in Gaucher's disease, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **22**, 62 (1968).
476. Okada S., O'Brien J. S., Generalized gangliosidosis: β -galactosidase deficiency, *Science*, **160**, 1002 (1968).
477. Opfell R. W., Lorkin P. A., Lehmann H., Hereditary non-spherocytic haemolytic anaemia with post-splenectomy inclusion bodies and pigmenturia caused by an unstable haemoglobin Santa Ana- β 88 (F4) leucine \rightarrow proline. *J. Med. Genet.*, **5**, 292 (1968).
478. Opitz J. M., Stiles F. C., Wise D., Race R. R., Sanger R., Von Gemmingen G. R., Kierland R. R., Cross E. G., De Grott W. P., The genetics of angio-keratoma corporis diffusum (Fabry's disease) and its linkage relations with the Xg locus, *Amer. J. Hum. Genet.*, **17**, 325 (1965).
479. Paglia D. E., Holland P., Baughan M. A., Valentine W. N., Occurrence of defective hexosephosphate isomerization in human erythrocytes and leucocytes, *New Engl. J. Med.*, **280**, 66 (1969).
480. Paglia D. E., Valentine W. N., Baughan M. A., Miller D. R., Reed C. F., McIntyre O. R., An inherited molecular lesion of erythrocyte pyruvate kinase, *J. Clin. Invest.*, **47**, 1929 (1968).
481. Painter T. J., Watkins W. M., Morgan W. T. J., Isolation of a B-specific disaccharide from human blood-group B substance, *Nature (Lond.)*, **193**, 1042 (1962).
482. Pare C. M. B., Sandler M., Stacey R. C., 5-hydroxytryptamine deficiency in phenylketonuria, *Lancet*, **1**, 511 (1957).
483. Parker W. C., Bearn A. G., Haptoglobin and transferrin variation in humans and primates: two new transferrins in Chinese and Japanese populations, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **25**, 227 (1961).
484. Parr C. W., Erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase polymorphism, *Nature (Lond.)*, **210**, 487 (1966).
485. Parrington J. M., Cruickshank G., Hopkinson D. A., Robson E. B., Harris H., Linkage relationships between the three phosphoglucomutase loci PGM₁, PGM₂ and PGM₃, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **32**, 27 (1968).
486. Patrick A. D., A deficiency of glucocerebrosidase in Gaucher's disease, *Biochem. J.*, **97**, 17c (1965).
487. Pauling L., Itano H. A., Singer S. J., Wells I. C., Sickle cell anaemia, a molecular disease, *Science*, **110**, 543 (1949).

488. Patrick A. D., Lake B. D., Deficiency of an acid lipase in Wolman's disease, *Nature (Lond.)*, 222, 1067 (1969).
489. Penhoet E. E., Kochman M., Valentine R., Rutter W. J., The subunit structure of mammalian fructose diphosphate aldolase, *Biochemistry*, 6, 2940 (1967).
490. Penhoet E. E., Rajkumar T. V., Rutter W. J., Multiple forms of fructose diphosphate aldolase in mammalian tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 56, 1275 (1966).
491. Penrose L. S., Quelques principes sur la fréquence des gènes et sa stabilité dans les populations humaines, *J. Génét. Hum.*, 3, 159 (1954).
492. Penrose L. S., Outline of human genetics, 2nd edition, Heinemann, London (1963).
493. Perlroth M. J., Tschudy D. P., Marver H. S., Berard C. W., Zeigel R. F., Rechcigl M., Collins A., Acute intermittent porphyria, New morphologic and biochemical findings, *Amer. J. Med.*, 41, 149 (1966).
494. Perutz M. F., Lehmann H., Molecular pathology of human haemoglobin, *Nature (Lond.)*, 219, 902 (1968).
495. Perutz M. F., Mitchison J. M., State of haemoglobin in sickle cell anaemia, *Nature (Lond.)*, 166, 677 (1950).
496. Perutz M. F., Muirhead H., Cox J. M., Goaman L. C. G., Three-dimensional Fourier synthesis of horse oxyhaemoglobin at 2.8 Å resolution: the atomic model, *Nature (Lond.)*, 219, 131 (1968).
497. Peters J. H., Gordon J. R., Brown O., The relationship between the capacities of human subjects to acetylate isoniazid, sulfanilamide and sulfamethazine, *Life Sci.*, 4, 99 (1965).
498. Pinto P. V. C., Newton W. A. Jr., Richardson K. E., Evidence for four types of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase from G-6-PD deficient human subjects, *J. Clin. Invest.*, 45, 823 (1966).
499. Piomelli S., Corash L. M., Davenport D. D., Miraglia J., Ambrosi E. L., Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (types Gd^{A-} and Gd^{Mediterranean}); the result of in vitro instability of the mutant enzymes, *J. Clin. Invest.*, 47, 490. (1968).
500. Pootrakul S., Wasi P., Na-Nakorn S., Haemoglobin Bart's hydrops foetalis in Thailand, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 30, 293 (1967a).
501. Pootrakul S., Wasi P., Na-Nakorn S., Studies on haemoglobin Bart's (Hb-γ₄) in Thailand: the incidence and the mechanism of occurrence in cord blood, *Ann. Hum. Genet., Lond.*, 31, 149 (1967b).
502. Porter I. H., Boyers S. H., Watson-Williams E. J., Adam A., Szeinberg A., Siniscalco M., Variation of glucose-6 phosphate dehydrogenase in different populations, *Lancet*, , 895 (1965).
503. Prader A., Auricchio S., Defects of intestinal disaccharide absorption, *Ann. Rev. Med.*, 16, 345 (1965).
504. Ptashne M., Isolation of the λ phage repressor, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 57, 306 (1967).
505. Pusztal A., Morgan W. T. J., The amino acid composition of the human blood-group A, B, H and Le^a specific substances, *Biochem. J.*, 88, 546 (1963).
506. Putkonen T., Über die gruppenspezifischen Eigenschaften verschiedener Körperflüssigkeiten, *Acta Soc. Med. Fenn.*, «Duodecim» A, 14, № 12 (1930).
507. Querido A., Stanbury J. B., Kassenaas A. A. H., Meijer J. W. A., The metabolism of iodotyrosines, III. Di-iodotyrosine deshalogenating activity of human thyroid tissue, *J. Clin. Endocr.*, 16, 1096 (1956).
508. Race R. R., Sanger R., Blood groups in man, 5th edition, Blackwell, Oxford (1968).
509. Race C., Zideman D., Watkins W. M., An α-D-galactosyltransferase associated with the blood group B character, *Biochem. J.*, 107, 733 (1968).
510. Ramot B., Brok F., A new glucose-6-phosphate dehydrogenase mutant (Tel-Hashomer mutant), *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 28, 167 (1964).

511. Ramot B., Fisher S., Szeinberg A., Adam A., Sheba C., Gafni D., A study of subjects with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, II. Investigation of leucocyte enzymes, *J. Clin. Invest.*, 38, 2234 (1959).
512. Ranney H. M., Jacobs A. S., Bradley T. B., Cordova F. A., A «new» variant of haemoglobin A₂ and its segregation in a family with haemoglobin W. *Nature (Lond.)*, 197, 164 (1963).
513. Raper A. B., Sickling in relation to morbidity from malaria and other diseases, *Brit. Med. J.*, 1, 965 (1956).
514. Raper A. B., Gammack D. B., Huehns E. R., Shooter E. M., Four haemoglobins in one individual, A study of the genetic interaction of Hb G and Hb C, *Brit. Med. J.*, 2, 1257 (1960).
515. Rapley S., Robson E. B., Harris H., Data on the incidence, segregation and linkage relations of the adenylate kinase (AK) polymorphism, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 31, 237 (1967).
516. Rasmussen K., Phosphorylethanolamine and hypophosphatasia, *Danish Med. Bull.*, 15 (supplement) (1958).
517. Rathbun J. G., Hypophosphatasia, a new development anomaly, *Amer. J. Diseases Children*, 75, 822 (1948).
518. Rathbun J. C., Macdonald J. W., Robinson H. M., Wanklin J. M., Hypophosphatasia: a genetic study, *Arch. Disease Childhood*, 36, 540 (1961).
519. Rege V. P., Painter T. J., Watkins W. M., Morgan W. T. J., Isolation of serologically active fucose-containing oligosaccharides from human blood-group H substance, *Nature (Lond.)*, 203, 360 (1964a).
520. Rege V. P., Painter T. J., Watkins W. M., Morgan W. T. J., Isolation of a serologically active, fucose-containing trisaccharide from human blood-group Le^a substance, *Nature (Lond.)*, 204, 740 (1964b).
521. Renwick J. H., Progress in mapping human autosomes, *Brit. Med. Bull.*, 25, 65 (1969).
522. Rey J., Frèzal J., Les anomalies des disaccharidases, *Arch. Franc. Pédiat.*, 24, 65 (1967).
523. Rey J., Frèzal J., Royer P., Lamy M., L'absence congénitale de lipase pancréatique, *Arch. Franc. Pédiat.*, 23, 5 (1966).
524. Reider R. F., Bradley T. B., Hemoglobin Gun Hill: an unstable protein associated with chronic hemolysis, *Blood*, 32, 355 (1968).
525. Rienskou T., The Gc system, *Series Haematologica*, 1, 1, 21 (1968).
526. Ritter H., Wendt G. G., Untersuchung von 223 Familien zur Formalen Genetik des INV-Polymorphismus, *Humangenetik*, 1, 123 (1964).
527. Robson E. B., Harris H., Genetics of the alkaline phosphatase polymorphism of the human placenta, *Nature (Lond.)*, 207, 1257 (1965).
528. Robson E. B., Harris H., Further data on the incidence and genetics of the serum cholinesterase phenotype C₅+, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 29, 403 (1966).
529. Robson E. B., Harris H., Further studies on the genetics of placental alkaline phosphatase, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 30, 219 (1967).
530. Ropartz C., Lenoir J., Rivat L., A new inheritable property of human sera: the InV factor, *Nature (Lond.)*, 189, 586 (1961).
531. Rosenberg L. E., Cystinuria: genetic heterogeneity and allelism, *Science*, 154, 1341 (1966).
532. Rosenberg L. E., Albrecht I., Segal S., Lysine transport in human kidney: evidence for two systems, *Science*, 155, 1426 (1967).
533. Rosenberg L. E., Downing S., Durant J. L., Segal S., Cystinuria: biochemical evidence for three genetically distinct diseases, *J. Clin. Invest.*, 45, 365 (1966).
534. Rosenberg L. E., Lilljeqvist A.-Ch., Hsia Y.-E., Methylmalonic aciduria, *New Engl. J. Med.*, 278, 1319 (1968).
535. Rosenberg L. E., Durant J. L., Elsas L. J., Familial iminoglycinuria, An inborn error of renal tubular transport, *New Engl. J. Med.*, 278, 1407 (1968).
536. Rosenbloom F. M., Kelley W. N., Henderson J. F., Segmiller J. E., Lyon hypothesis and X-linked disease, *Lancet*, 2, 305 (1967).

537. Russell J. D., Demars R., UDP-glucose: α -D-galactose-1-phosphate uridylyl-transferase activity in cultured human fibroblasts, *Biochem. Genet.*, **1**, 11 (1967).
538. Russell A., Levin B., Oberholzer V. G., Sinclair L., Hyperammonemia, A new instance of an inborn enzymatic defect of the biosynthesis of urea, *Lancet*, **2**, 699 (1962).
539. Rutter W. J., Rajkumar T., Penhoet E., Kochman M., Aldolase variants: structure and physiological significance, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **151**, 102 (1968).
540. Sachs B., Sternfeld L., Kraus G., Essential fructosuria: its pathophysiology, *Am. J. Diseases Children*, **63**, 252 (1942).
541. Salzmann J., Demars R., Benke P., Single-allele expression at an X-linked hyperuricemia locus in heterozygous human cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **60**, 545 (1968).
542. Santachiara A. S. B., Modiano G., Ultracentrifuge studies of red cell phosphoglucomutase, *Nature (Lond.)*, **233**, 625 (1969).
543. Schmid K., Tokita K., Yoshizaki H., The α_1 -acid glycoprotein variants of normal Caucasian and Japanese individuals, *J. Clin. Invest.*, **44**, 1394 (1965).
544. Sansone G., Carrell R. W., Lehmann H., Haemoglobin Geneva: β 28 (B10) leucine \rightarrow proline, *Nature (Lond.)*, **214**, 877 (1967).
545. Di Sant'Agnesse P. A., Andersen D. H., Mason H., Glycogen storage disease of the heart, II. Critical review of the literature, *Pediatrics*, **6**, 607 (1950).
546. Shapira F., Schapira G., Dreyfus J.-C., La lésion enzymatique de la fructosurie benigne, *Enzymol. Biol. clin.*, **1**, 170 (1961).
547. Schiff F., Über den serologischen Nachweis der Blutgruppeneigenschaft O, *Klin. Wschr.*, **6**, 303 (1927).
548. Schiff F., Sasaki H., Der Ausscheidungstypus, ein auf serologischen Wege nachweisbares Mendelndes Merkmal, *Klin. Wschr.*, **11**, 1426 (1932).
549. Schiffman G., Kabat E. A., Leskowitz S., Immunochemical studies on blood groups, XXVI. The isolation of oligosaccharides from human ovarian cyst blood group A substance including two disaccharide involved in the specificity of the blood group A antigenic determinant, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 73 (1962).
550. Schiffman G., Kabat E. A., Thompson W., Immunochemical studies on blood groups, XXX. Cleavage of A, B and H blood-group substances by alkali, *Biochemistry*, **3**, 113 (1964).
551. Schiffman G., Kabat E. A., Thompson W., Immunochemical studies on blood groups, XXXII. Immunochemical properties of and possible partial structures for the blood group A, B and H antigenic determinants, *Biochemistry*, **3**, 587 (1964).
552. Schmid K., Binett J. P., Tokita K., Moroz I., Yoshizaki H., The polymorphic forms of α_1 -acid glycoprotein of normal Caucasian individuals, *J. Clin. Invest.*, **43**, 2347 (1964).
553. Schmid R., Robbins P. W., Taut R. R., Glycogen synthesis in muscle lacking phosphorylase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **45**, 1236 (1959).
554. Schimke R. N., McKusick V. A., Huang T., Pollack A. D., Homocystinuria: studies of 20 families with 38 affected members, *J. Am. Med. Ass.*, **193**, 711 (1965).
555. Schneider A. S., Dunn I., Ibsen K. H., Weinstein I. M., Inherited triosephosphate isomerase deficiency, Erythrocyte carbohydrate metabolism and preliminary studies of the erythrocyte enzyme. In: *Hereditary disorders of erythrocyte metabolism*, ed. E. Beutler, Grune and Stratton, New York (1968a).
556. Schneider A. S., Valentine W. N., Hattori M., Heins H. L., Hereditary hemolytic anaemia with triosephosphate isomerase deficiency, *New Engl. J. Med.*, **272**, 229 (1965).
557. Schneider A. S., Valentine W. N., Baughan M. A., Paglia D. E., Shore N. A., Heins H. L. Jr., Triose phosphate isomerase deficiency, A multi system inherited disorder, Clinical and genetical aspects. In: *Hereditary disorders of erythrocyte metabolism*, ed. E. Beutler, Grune and Stratton, New York (1968b).

558. Schreier K., Flaig H., Urinary excretion of indolepyruvic acid in normal conditions and Folling's disease, *Klin. Wschr.*, **34**, 1213 (1956).
559. Schroeder W. A., Huisman T. H. J., Shelton J. R., Shelton J. B., Kleihauer E. F., Dozy A. M., Robberson B., Evidence for multiple structural genes for the γ chain of human fetal hemoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **60**, 537 (1968).
560. Schröter W., Kongenitale nichtspäracytäre hämolytische Anämie bei 2,3-Diphosphoglyceratmutase Mangel der Erythrocyten im frühen Säuglingsalter, *Klin. Wschr.*, **43**, 1147 (1965).
561. Schwarz V., Golberg L., Komrower G. M., Holzel A., Some disturbances of erythrocyte metabolism in galactosaemia, *Biochem. J.*, **62**, 34 (1956).
562. Scott E. M., The relation of diaphorase of human erythrocytes to inheritance of methaemoglobinemia, *J. Clin. Invest.*, **39**, 1176 (1960).
563. Scott E. M., Kinetic comparison of genetically different acid phosphatases of human erythrocytes, *J. Biol. Chem.*, **241**, 3049 (1966).
564. Scott E. M., Griffith I., The enzymic defect of hereditary methaemoglobinemia: diaphorase, *Biochim. Biophys. Acta*, **34**, 584 (1959).
565. Scriver C. R., Aminoacid transport in mammalian kidney. In: *Aminoacid metabolism and genetic variation*, Ed. W.L. Nyhan, McGraw Hill, New York (1967).
566. Scriver C. R., Renal tubular transport of proline hydroxyproline and glycine III. Genetic basis for more than one mode of transport in human kidney, *J. Clin. Invest.*, **47**, 823 (1968).
567. Scriver C. R., Hechtmen P., Human genetics of membrane transport with emphasis on aminoacids. In: *Advances in human genetics*, ed. H. Harris and K. Hirschhorn, vol. 1, Plenum Press, New York (1970).
568. Scriver C. R., Larochelle J., Silverberg M., Hereditary tyrosinemia and tyrosyluria in a French Canadian geographic isolate, *Am. J. Diseases Children*, **113**, 41 (1967).
569. Seegmiller J. E., Rosenbloom F. M., Kelley W. N., Enzyme defect associated with a sex-linked human neurological disorder and excessive purine synthesis, *Science*, **155**, 1682 (1967).
570. Shafer I. A., Scriver C. R., Efron M. L., Familial hyperprolinaemia, cerebral dysfunction, and renal anomalies occurring in a family with hereditary nephropathy and deafness, *New Engl. J. Med.*, **267**, 51 (1962).
571. Sheldon W., Congenital pancreatic lipase deficiency, *Arch. Disease Childhood.*, **39**, 268 (1964).
572. Shaw C. R., Electrophoretic variation in enzymes, *Science*, **149**, 936 (1965).
573. Shaw C., Barto E., Genetic evidence for the subunit structure of lactate dehydrogenase isozymes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **50**, 211 (1963).
574. Shaw C. R., Syner F. N., Tashian R. E., New genetically determined molecular form of erythrocyte esterase in man, *Science*, **138**, 31 (1962).
575. Shen L., Grollman E. F., Ginsburg V., An enzymatic basis for secretor status and blood group substance specificity in humans, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **59**, 224 (1968).
576. Shibata S., Miyaji T., Karita K., Iuchi I., Ohba Y., Yamamoto K., A new type of hereditary nigremia discovered in Akita — hemoglobin M^{Hyde Park} disease, *Proc. Japan Acad.*, **43**, No 1 (1967).
577. Shim B. S., Bearn A. G., The distribution of haptoglobin subtypes in various populations, including subtype patterns in some non-human primates, *Am. J. Hum. Genet.*, **16**, 477 (1964).
578. Shows T. B. Jr., Tashian R. E., Brewer G. J., Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase in Caucasians: new inherited variant, *Science*, **145**, 1056 (1964).
579. Shreffler D. C., Brewer G. J., Gall J. C., Honeyman M. S., Electrophoretic variation in human serum ceruloplasmin: a new genetic polymorphism, *Biochem. Genet.*, **1**, 101 (1967).

580. Sick K., Beale D., Irvine D., Lehmann H., Goodall P. T., MacDougall S., Haemoglobin G_{Copenhagen} and Haemoglobin J_{Cambridge}, Two new β -chain variants of haemoglobin A, *Biochim. Biophys. Acta*, **140**, 231 (1967).
581. Simpson E., Factors influencing cholinesterase activity in a Brazilian population, *Am. J. Hum. Genet.*, **18**, 243 (1966).
582. Simpson N. E., Kalow W., The «silent» gene for serum cholinesterase, *Am. J. Hum. Genet.*, **16**, 180 (1964).
583. Sloan H. R., Uhlendorf B. W., Kanfer J. N., Brady R. O., Fredrickson D. S., Deficiency of sphingomyelin-cleaving enzyme activity in tissue cultures derived from patients with Niemann-Pick disease, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **34**, 582 (1969).
584. Smith E. W., Torbert J. V., Two abnormal haemoglobins with evidence for a new genetic locus for haemoglobin formation, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **102**, 38 (1958).
585. Smith L. H. Jr., Sullivan M., Huguley C. M. Jr., Pyrimidine metabolism in man, IV. The enzymatic defect of oroticaciduria, *J. Clin. Invest.*, **40**, 656 (1961).
586. Smithies O., Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults, *Biochem. J.*, **61**, 629 (1955).
587. Smithies O., Variations in human serum β -globulins, *Nature (Lond.)*, **180**, 1482 (1957).
588. Smithies O., Chromosomal rearrangements and protein structure, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **29**, 309 (1964).
589. Smithies O., Connell G. E. Biochemical aspects of the inherited variations in human serum haptoglobins and transferrins. In: *Ciba Foundation Symposium on Biochemistry of Human Genetics*, ed. G. E. Wolstenholme and C. M. O'Connor, Churchill, London (1959).
590. Smithies O., Connell G. E., Dixon G. H., Inheritance of haptoglobin subtypes, *Am. J. Hum. Genet.*, **14**, 14 (1962a).
591. Smithies O., Connell G. E., Dixon G. H., Chromosomal rearrangements and the evolution of haptoglobin genes, *Nature (Lond.)*, **196**, 232 (1962b).
592. Smithies O., Connell G. E., Dixon G. H., Gene action in the human haptoglobins, I. Dissociation into constituent polypeptide chains, *J. Mol. Biol.*, **21**, 213 (1966).
593. Smithies O., Hiller O., The genetic control of transferrin in humans, *Biochem. J.*, **72**, 121 (1959).
594. Smithies O., Walker N. F., Genetic control of some serum proteins in normal humans, *Nature (Lond.)*, **176**, 1265 (1955).
595. Smithies O., Walker N. F., Notation for serum protein groups and the genes controlling their inheritance, *Nature (Lond.)*, **178**, 694 (1956).
596. Sneath J. S., Sneath P. H. A., Transformation of Lewis groups of human red cells, *Nature (Lond.)*, **176**, 172 (1955).
597. Snyder L. H., Fifty years of medical genetics, *Science*, **129**, 7 (1959).
598. Snyderman S. E., Maple syrup urine disease. In: *Amino acid metabolism and genetic variation*, ed. W. L. Nyhan. McGraw-Hill, New York (1967).
599. Snyderman S. E., Norton P., Holt L. E. Jr., Effect of tyrosine administration in phenylketonuria, *Federation Proc.*, **14**, 450 (1955).
600. Sobel E. H., Clark L. C., Fox R. P., Robinow M., Rickets, deficiency of alkaline phosphatase activity and premature loss of teeth in childhood, *Pediatrics*, **11**, 309 (1953).
601. Spencer N., Hopkinson D. A., Harris H., Phosphoglucosmutase polymorphism, in man, *Nature (Lond.)*, **204**, 742 (1964a).
602. Spencer N., Hopkinson D. A., Harris H., Quantitative differences and gene dosage in the human red cell acid phosphatase polymorphism, *Nature (Lond.)*, **201**, 299 (1964b).
603. Spencer N., Hopkinson D. A., Harris H., Adenosine deaminase polymorphism in man, *Ann. Hum. Genet. Lond.*, **32**, 9 (1968).

604. Stamatoyannopoulos G., Fraser G. R., Motulsky A. G., Fessas P., Akritakis A., Papayannopoulou T., On the familial predisposition to favism, *Am. J. Hum. Genet.*, **18**, 253 (1966).
605. Stamatoyannopoulos G., Yoshida A., Bacopoulos C., Motulsky A. G., Athens variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Science*, **157**, 831 (1967).
606. Stanbury J. B., Familial goitre. In: *The metabolic basis of inherited disease*, ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden and D. S. Fredrickson, 2nd edition, McGraw-Hill, New York (1966).
607. Stein W. H., Excretion of aminoacids in cystinuria, *Proc. Soc. Exptl. Biol.*, **78**, 705 (1951).
608. Steinberg A. G., Genetic variations in human immunoglobulins, The Gm and Inv types, In: *Advances in immunogenetics*, ed. T. J. Greenwalt. Lippincott, Philadelphia (1967).
609. Stetson C. A. Jr., The state of haemoglobin in sickled erythrocyte, *J. Exptl. Med.*, **123**, 341 (1966).
610. Stone W. S., Wheeler M. R., Johnson F. M., Kojima K.-I., Genetic variation in natural island populations of members of the *Drosophila nasuta* and *Drosophila ananassae* subgroups, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **59**, 102 (1968).
611. Sunahara S., Urano M., Ogawa M., Genetical and geographical studies on isoniazid inactivation, *Science*, **134**, 1530 (1961).
612. Sweeley C. C., Klionsky B., Fabry's disease: classification as a sphingolipidosis and partial characterization of a novel glycolipid, *J. Biol. Chem.*, **238**, PC 3148 (1963).
613. Szeinberg A., Sheba C., Adam A., Enzymatic abnormality in erythrocytes of a population sensitive to *Vicia faba* or drug induced haemolytic anaemia, *Nature (Lond.)*, **181**, 1256 (1958).
614. Szulman A. E., The histological distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence, Part III. The A, B and H antigens in embryos and fetuses from 18mm in length, *J. Exptl. Med.*, **119**, 503 (1964).
615. Szulman A. E., Chemistry, distribution, and function of blood group substances, *Ann. Rev. Med.*, **17**, 307 (1966).
616. Tada K., Wada Y., Arakawa T., Hypervalinemia, *Arch. Disease childhood*, **113**, 64 (1967).
617. Takahara S., Progressive oral gangrene, probably due to a lack of catalase in the blood (acatalasaemia), *Lancet*, **2**, 1101 (1952).
618. Takahara S., Acatalasemia in Japan. In: *Hereditary disorders of erythrocyte metabolism*, ed. E. Beutler, Grune and Stratton, New York (1968).
619. Tanaka K. R., Beutler E., Hereditary hemolytic anemia due to glucose-6-phosphate dehydrogenase Torrance: a new variant, *J. Lab. Clin. Med.*, **73**, 657 (1969).
620. Tanaka K. R., Budd M. A., Efron M. L., Isselbacher K. J., Isovaleric acidemia: a new genetic defect of leucine metabolism, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **56**, 236 (1966).
621. Tanaka K. R., Valentine W. N., Pyruvate kinase deficiency. In: *Hereditary disorders of erythrocyte metabolism*, ed. E. Beutler. Grune and Stratton, New York (1968).
622. Tanaka K. R., Valentine W. N., Miwa S., Pyruvate kinase (PK) deficiency: hereditary non-spherocytic hemolytic anemia, *Blood*, **19**, 267 (1962).
623. Taniguchi K., Glessing L. R., Studies on tyrosinosis: 2. Activity of the transaminase, para-hydroxal-phenyl pyruvate oxidase and homogentisic acid oxidase, *Brit. Med. J.*, **1**, 968 (1965).
624. Tarui S., Kono N., Nasu T., Nishikawa M., Enzymatic basis for the coexistence of myopathy and hemolytic disease in inherited muscle phosphofructokinase deficiency, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **34**, 77 (1969).
625. Tarui S., Okuno G., Ikura Y., Tanaka T., Suda M., Nishikawa M., Phosphofructokinase deficiency in skeletal muscle, A new type of glucogenosis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **19**, 517 (1965).

626. *Tashian R. E.*, Phenylpyruvic acid as a possible precursor of *o*-hydroxyphenylacetic acid in man, *Science*, **129**, 1553 (1959).
627. *Tashian R. E.*, *Plato C. C.*, *Shows T. B.*, Inherited variant of erythrocyte carbonic anhydrase in Micronesians from Guam and Saipan, *Science*, **140**, 53 (1963).
628. *Tashian R. E.*, *Shaw M. W.*, Inheritance of anerythrocyte acetylcholinesterase variant in man, *Amer. J. Hum. Genet.*, **14**, 295 (1962).
629. *Tashian R. E.*, *Shreffler D. C.*, *Shows T. B.*, Genetic and phylogenetic variation in the different molecular forms of mammalian erythrocyte carbonic anhydrases, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **151**, 64 (1968).
630. *Tedesco T. A.*, *Mellman W. J.*, Argininosuccinate synthetase activity and citrulline metabolism in cells cultured from a citrullinemic subject, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **57**, 829 (1967).
631. *Thier S. O.*, *Fox M.*, *Segal S.*, *Rosenberg L. E.*, Cystinuria: in vitro demonstration of an intestinal transport defect, *Science*, **143**, 482 (1964).
632. *Thier S. O.*, *Segal S.*, *Fox M.*, *Blair A.*, *Rosenberg L. E.*, Cystinuria: defective intestinal transport of dibasic amino acids and cystine, *J. Clin. Invest.*, **44**, 442 (1965).
633. *Tomlinson S.*, *Westall R. G.*, Argininosuccinic aciduria, Argininosuccinase and arginase in human blood cells, *Clin. Sci.*, **66**, 261 (1964).
634. *Tönz O.*, The congenital methemoglobinemias, *Bibliotheca Haematologica* № 28. Karger, Basel (1968).
635. *Touster O.*, Pentose metabolism and pentosuria, *Am. J. Med.*, **26**, 724 (1959).
636. *Townes P. L.*, Trypsinogen deficiency disease, *J. Pediat.*, **66**, 275 (1965).
637. *Townes P. L.*, *Bryson M. F.*, *Miller G.*, Further observations on trypsinogen deficiency disease: report of a second case, *J. Pediat.*, **71**, 220 (1967).
638. *Townes P. L.*, *Morrison M.*, Investigation of the defect in a variant of hereditary methemoglobinemia, *Blood*, **19**, 60 (1962).
639. *Townsend E. H.*, *Mason H. H.*, *Strong P. S.*, Galactosemia and its relation to Laennec's cirrhosis: review of literature and presentation of six additional cases, *Pediatrics*, **7**, 760 (1951).
640. *Tschudy D. P.*, *Perltroth M. G.*, *Marver H. S.*, *Collins A.*, *Hunter G.*, *Rechcigl M.*, Acute intermittent porphyria: the first «overproduction disease» localized to a specific enzyme, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **53**, 841 (1965).
641. *Uhlendorf B. W.*, *Mudd S. H.*, Cystathionine synthase in tissue culture from human skin: enzyme defect in homocystinuria, *Science*, **160**, 1007 (1968).
642. *Valentine W. N.*, Hereditary hemolytic anemias associated with specific erythrocyte enzymopathies, *Calis. Med.*, **108**, 280 (1968).
643. *Valentine W. N.*, *Oski F. A.*, *Paglia D. E.*, *Baughan M. A.*, *Schneider A. S.*, *Naiman J. L.*, Hereditary hemolytic anemia with hexokinase deficiency, *New Engl. J. Med.*, **276**, 1 (1967).
644. *Valentine W. N.*, *Schneider A. S.*, *Baughan M. A.*, *Paglia D. E.*, *Heins H. L. Jr.*, Hereditary hemolytic anemia with triose-phosphate isomerase deficiency, *Am. J. Med.*, **41**, 27 (1966).
645. *Valentine W. N.*, *Tanaka K. R.*, *Miwa S.*, A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia, *Trans. Ass. Amer. Physicians*, **74**, 100 (1961).
646. *Vandepitte J. M.*, *Zuelzer W. W.*, *Neel J. V.*, *Colaert J.*, Evidence concerning the inadequacy of mutation as an explanation of the frequency of the sickle cell gene in the Belgian Congo, *Blood*, **10**, 341 (1955).
647. *Vandepitte J. M.*, The incidence of haemoglobinoses in the Belgian Congo. In: *Abnormal haemoglobins*, ed. J.H.P. Jonxis and J. F. Delafresnaye, Blackwell, Oxford (1959).
648. *Van Hoof F.*, Amylo-1,6-glucosidase activity and glycogen content of the erythrocytes of normal subjects, Patients with glycogen storage disease and heterozygotes, *Eur. J. Biochem.*, **6**, 271 (1967).
649. *Van Hoof F.*, *Hers H. G.*, The abnormalities of lysosomal enzymes in mucopolysaccharidoses, *Eur. J. Biochem.*, **7**, 34 (1968).

650. Vesell E. S., Formation of human lactate dehydrogenase isozyme patterns in vitro, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **54**, 111 (1965a).
651. Vesell E. S., Genetic control of isozyme patterns in human tissues. In: *Progress in medical genetics*, ed. A. G. Steinberg and A. C. Bearn, Grune and Stratton, New York (1965b).
652. Vesell E. S., Introduction, Multiple molecular forms of enzymes, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **151**, 5 (1968).
653. Von Gierke E., Hepato nephromegalia glykogenia, *Beitr. Pathol. Anat.*, **82**, 497 (1929).
654. Wada Y., Taka K., Minegawa A., Yoshida T., Morikawa T., Okamura T., Idiopathic hypervalinemia, Probably a new entity of inborn error of valine metabolism, *Tohoku J. Exptl. Med.*, **81**, 46 (1963).
655. Waldenström J., Studien über Porphyrie, *Acta Med. Scand. Suppl.* **82** (1937).
656. Waldenström J., The porphyrias as inborn errors of metabolism, *Amer. J. Med.*, **22**, 758 (1957).
657. Waldenström J., Haeger-Aronsen B., The porphyrias: a genetic problem. In: *Progress in medical genetics*, ed. A. G. Steinberg and A. G. Bearn, Vol. 5. Grune and Stratton, New York (1967).
658. Wallace H. W., Moldave K., Meister A., Studies on conversion of phenylalanine to tyrosine in phenylpyruvic oligophrenia, *Proc. Soc. Exptl. Biol.*, **94**, 632 (1957).
659. Waller H. D., Glutathione reductase deficiency. In: *Hereditary disorders of erythrocyte metabolism*, ed. E. Beutler, Grune and stratton, New York (1968).
660. Waller H.D., Lohr G., Zysno E., Gerok W., Voss D., Strauss G., Glutathionreductasemangel mit hämatologischen und neurologischen Störungen, *Klin. Wschr.*, **43**, 413 (1965).
661. Watkins W. M., The appearance of H specificity following the enzymic inactivation of blood-group B substance, *Biochem. J.*, **64**, 21P (1956).
662. Watkins W. M., Blood group substances, *Science*, **152**, 172 (1966).
663. Watkins W. M., Koscielak J., Morgan W. T. J., The relationship between the specificity of the blood-group A and B substances isolated from erythrocytes and from secretions, *Proc. 9th Congr. Int. Soc. Blood Transfusion, Mexico City*, 1962, p. 213 (1964).
664. Watkins W. M., Morgan W. T. J., Neutralization of the anti-H agglutinin in eel serum by simple sugars, *Nature (Lond.)*, **169**, 825 (1952).
665. Watkins W. M., Morgan W. T. J., Inhibition by simple sugars of enzymes which decompose the blood-group substances, *Nature (Lond.)*, **175**, 676 (1955a).
666. Watkins W. M., Morgan W. T. J., Some observations on the O and H characters of human blood and secretions, *Vox Sang. (O. S.)*, **5**, 1 (1955b).
667. Watkins W. M., Morgan W. T. J., Specific inhibition studies relating to the Lewis blood-group system, *Nature (Lond.)*, **180**, 1038 (1957a).
668. Watkins W. M., Morgan W. T. J., The A and H character of the blood group substances secreted by persons belonging to group A₂, *Acta Ceret. Statist. Med.*, **6**, 521 (1957b).
669. Watkins W. M., Morgan W. T. J., Further observations on the inhibition of blood-group specific serological reactions by simple sugars of known structure, *Vox Sang.*, **7**, 129 (1962).
670. Watkins W. M., Zarnitz M. L., Kabat E. A., Development of H activity by human blood-group B substance treated with coffee bean α -galactosidase, *Nature (Lond.)*, **195**, 1204 (1962).
671. Watson J. D., Crick F. H. C., Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid, *Nature (Lond.)*, **171**, 964 (1953).
672. Watts R. L., Watts D. C., The implications for molecular evolution of possible mechanisms of primary gene duplication, *J. Theoret. Biol.*, **20**, 227 (1968).
673. Watts R. W. E., Engleman K., Klinenberg J. R., Seegmiller J. E., Sjoerdsma, Enzyme defect in a case of xanthinuria, *Nature (Lond.)*, **201**, 395 (1963).
674. Weatherall D. J., Genetics of the thalassaemias, *Brit. Med. Bull.*, **25**, 24 (1969).

699. Wu K.-D., Krooth R. S., Dihydroorotic acid dehydrogenase activity of human diploid cell strains, *Science*, **160**, 539 (1968).
700. Ycas M., The biological code. North-Holland Publishing Co. Amsterdam. (1969).
701. Yoshida A., A single amino acid substitution (asparagine to aspartic acid) between normal (B+) and the common Negro variant (A+) of human glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **57**, 835 (1967).
702. Yoshida A., Stamatoyannopoulos G., Motulsky A. G., Negro variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (A-) in man, *Science*, **155**, 97 (1967a).
703. Yoshida A., Steinmann L., Harbart P., In vitro hybridization of normal and variant human glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Nature (Lond.)*, **216**, 275 (1967b).
704. Zeller E. A., Isolierung von Phenylmilchsäure und Phenyltraubensäure aus Harn bei Imbecillitas Phenylpyruvica, *Helv. Chim. Acta*, **26**, 1614 (1943).
705. Zideman D., Gompertz S., Smith Z. G., Watkins W. M., Glycosyl transferases in mammalian gastric mucosal linings, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 56 (1967).
706. Zinkham W. H., Lactate dehydrogenase isozymes of testis and sperm: biological and biochemical properties and genetic control, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **151**, 598 (1968).
707. Zinkham W. H., Lenhard R. E. Jr., Childs B., A deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes of patients with favism, *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, **102**, 169 (1958).

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	5
Предисловие автора	9
Глава I. Генные мутации и единичные замещения аминокислот	11
I. Введение; гены, ДНК и белки	11
II. Варианты гемоглобина	15
III. Структура вариантов гемоглобина	19
IV. Единичные замещения аминокислот и генетический код	26
V. Эффекты единичных замещений аминокислот.	30
Глава II. Один ген — одна полипептидная цепь	38
I. «Гибридные» белки у гетерозигот	39
II. Полипептидные цепи, определяемые несколькими генными локусами (гемоглобин).	48
III. Лактатдегидрогеназа	53
IV. Фосфоглюкомутаза	59
V. Гены и изоферменты	66
VI. Расположение генных локусов, определяющих множественные молекулярные формы белка, в хромосомах	70
Глава III. Дупликации и делегации, их влияние на структуру белка	79
I. Варианты гаптоглобина	79
II. Дупликация генов и эволюция белка	87
III. Неравный кроссинговер	91
IV. Делеции	97
V. Два аминокислотных замещения ■ одной полипептидной цепи	99
Глава IV. Генные мутации, изменяющие скорость синтеза белка	101
I. Генетическая регуляция синтеза ферментов и других белков	101
II. Структурные гены ■ гены-регуляторы	103
III. Скорость синтеза полипептидной цепи и структура генов	105
IV. Наследуемые нарушения скорости белкового синтеза — талассемии	108
Глава V. Количественная ■ качественная вариабельность ферментов	118
I. Количественные вариации ферментативной активности	118
II. Сывороточная холинэстераза (ацилхолин — ацилгидролаза)	120
III. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФД)	131
IV. Кислая фосфатаза эритроцитов	144

Глава VI.	I. Га
	II. Ф
	III. Га
	IV. Не
	V. Ч
	по
	VI. Гл
	VII. Др
	VIII. Ге
	IX. Де
	X. Вр
	ны

Глава VII.	I. Гр
	II. Ло
	III. Ло
	IV. Пут

Глава VIII.	I. «Об
	II. Мас
	III. Ред
	IV. Мут
	V. Отб
	VI. Закл

Глава IX. Ген	I. Моле
	II. Доми
	III. Гетер
	IV. Насл

Приложение I.	A. Нарук
	B. Нарук
	B. Проч

Приложение II.	Литература
------------------------	----------------------

Глава VI. Врожденные нарушения обмена	151
I. Гаррод и концепция «врожденных нарушений обмена»	151
II. Фенилкетонурия	155
III. Галактоземия	158
IV. Недостаточность изоферментов	160
V. Частичная ферментная недостаточность и ее метаболические последствия; ферменты цикла мочевины	165
VI. Гликогенозы	170
VII. Другие болезни «депонирования»	176
VIII. Гетерозиготы	181
IX. Дефекты систем активного транспорта	186
X. Врожденные нарушения, касающиеся метаболизма лекарствен- ных препаратов	193
Глава VII. Группоспецифические вещества крови	200
I. Группы крови ABO	200
II. Локус <i>Secretor</i> и локус «H»	208
III. Локус <i>Lewis</i> , или <i>Le</i>	212
IV. Пути биосинтеза группоспецифических гликопротеидов	215
Глава VIII. Полиморфизм ферментов и других белков в популяциях человека	221
I. «Обычные» и «редкие» варианты	221
II. Масштабы полиморфизма	235
III. Редкие варианты	242
IV. Мутации, отбор и дрейф генов	243
V. Отбор и явления полиморфизма	247
VI. Заключительные замечания	251
Глава IX. Генные мутации и наследственные болезни	253
I. Молекулярная патология наследственных болезней	254
II. Доминантность и рецессивность	261
III. Гетерогенность наследственных болезней	263
IV. Наследственность и среда	270
Приложение I. Нарушения, связанные с недостаточностью определенных ферментов (врожденные нарушения обмена)	277
A. Нарушения углеводного обмена	277
Б. Нарушения обмена аминокислот	282
B. Прочие расстройства	287
Приложение II. Полиморфизм ферментных и других белков	293
Литература	295

УВАЖАЕМЫЙ ЧИТАТЕЛЬ!

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва, И-110, ГСП 1-й Рижский пер., д. 2, издательство «Мир».

Г. Харрис

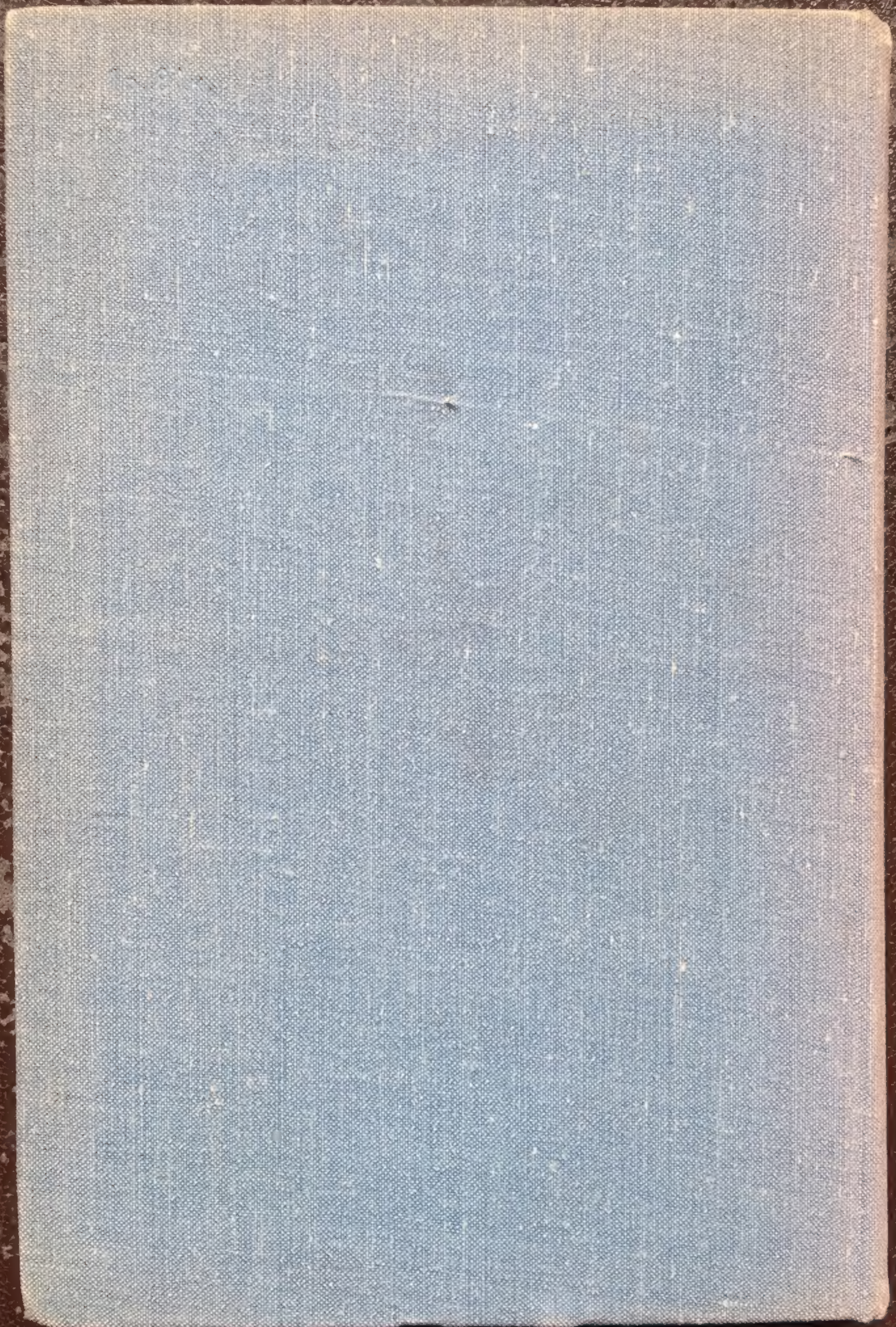
ОСНОВЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Редактор Е. Э. Казакевич
Художник В. Е. Карпов
Художественный редактор Ю. Л. Максимов
Технический редактор Е. Д. Кузнецова
Корректор Е. Г. Литвак

Сдано в набор 2/X 1972 г.
Подписано к печати 24/I 1973 г.
Бумага № 2 60×90^{1/16} = 10,25 бум. л. 20,5 печ. л.
Уч.-изд. л. 23,16 Изд. № 4/6425
Цена 1 р. 81 к. Зак. 843.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
Москва, 1-й Рижский пер., 2

Московская типография № 11 «Союзполиграфпро-
ма» при Государственном комитете Совета Ми-
нистров СССР по делам издательств, полиграфии
и книжной торговли. Москва, 113105, Нагатинская
ул. 1.





UNIVERSITY OF TORONTO
JAN 18 1890